



**UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA**  
**Facultad de Veterinaria**  
**Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos**

*Efecto de la sustitución de parte de la proteína de la dieta por urea, y de parte de la dieta por orujo de oliva, sobre la fermentación ruminal y los rendimientos productivos de terneros en cebo intensivo alimentados con piensos con altas proporciones de cebada.*

Máster de Iniciación a la investigación en Ciencias Veterinarias

**JOSÉ ESTAÚN ROMERO**  
Ingeniero Agrónomo

Zaragoza. Septiembre de 2012

## INDICE

<b>1- RESUMEN</b> .....	1
<b>2- ABSTRACT</b> .....	3
<b>3- INTRODUCCIÓN</b> .....	5
<b>4- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b> .....	8
4.1- IMPORTANCIA DE LA GANADERÍA DE VACUNO.....	8
4.1.1 Sistemas de producción de carne de vacuno.....	8
4.2- UTILIZACIÓN DE SUBPRODUCTOS DEL ACEITE DE OLIVA EN LA ALIMENTACIÓN DE GANADO.....	11
4.2.1 Proceso de fabricación del aceite de oliva y subproductos que genera..	11
4.2.2 Valor nutritivo del orujo de oliva.....	12
4.2.3 Toxicosis potencial del orujo de oliva.....	15
4.3- EFECTO DE LA INCLUSIÓN DE UREA EN LAS RACIONES PARA VACUNO EN CRECIMIENTO PRODUCIDO DE FORMA INTENSIVA.....	15
<b>5- OBJETIVOS DEL ESTUDIO</b> .....	17
<b>6- MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	18
6.1- ANIMALES, DIETAS Y DESARROLLO EXPERIMENTAL.....	18
6.2- ANÁLISIS QUÍMICOS.....	20
6.3- ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	21
<b>7- RESULTADOS</b> .....	23
7.1- COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LAS DIETAS.....	23
7.2- GANANCIA MEDIA DIARIA DE LOS TERNEROS Y DIGESTIBILIDAD DE LAS DIETAS CONSUMIDAS EN EL ENSAYO DE PRODUCCIÓN.....	24
7.3- FERMENTACIÓN RUMINAL.....	25

<b>8- DISCUSIÓN.....</b>	<b>33</b>
<b>9- CONCLUSIONES.....</b>	<b>36</b>
<b>10- BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>37</b>

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1:</b> Censo de ganado bovino en España en el mes de noviembre de 2011, distribuido por categorías.....	9
<b>Tabla 2:</b> Producción de aceite de oliva (toneladas/año) según clases, en España y Aragón.....	11
<b>Tabla 3:</b> Composición química (en % de la materia seca) de los principales tipos de orujo.....	13
<b>Tabla 4:</b> Composición, en g/kg, de los piensos utilizados en la primera fase del experimento.....	19
<b>Tabla 5:</b> Composición, en g/kg, de los piensos utilizados en la segunda fase del experimento.....	20
<b>Tabla 6:</b> Composición química de los piensos y la paja ofrecidos durante el balance de digestibilidad como representativos de los consumidos durante la Fase 1 del ensayo de producción.....	23
<b>Tabla 7:</b> Composición química de los piensos y la paja ofrecidos durante el ensayo de fermentación ruminal, como representativos de los consumidos durante la Fase 2 del ensayo de producción.....	24
<b>Tabla 8:</b> Pesos vivos inicial y final y ganancia media diaria de terneros en crecimiento que consumían diferentes dietas.....	25
<b>Tabla 9:</b> Ingestión de materia seca y materia orgánica total, de pienso y de paja, de terneros en crecimiento que consumían diferentes dietas.....	26
<b>Tabla 10:</b> Ingestión de proteína bruta y materia orgánica digestible total, de pienso y de paja, de terneros en crecimiento que consumían diferentes dietas.....	27
<b>Tabla 11:</b> Digestibilidad aparente de la materia seca, materia orgánica, proteína bruta y fibra neutro detergente (%) de terneros en crecimiento que consumían diferentes dietas .....	28
<b>Tabla 12:</b> Ingestión de materia seca total, de pienso y de paja, de terneros en crecimiento que consumían diferentes dietas durante un ensayo de estudio de la fermentación ruminal.....	28

**Tabla 13:** pH y concentraciones medias de amoniaco y ácidos grasos volátiles en el rumen de terneros en crecimiento que consumían diferentes dietas.....28

**Tabla 14:** Proporciones molares de los ácidos acético, propiónico, isobutírico, butírico, isovalérico y valérico en el rumen de terneros en crecimiento que consumían diferentes dietas.....31

## INDICE DE FIGURAS

**Figura 1:** Evolución en el tiempo (horas tras la administración del alimento) de los valores medios de pH, y de las concentraciones medias de amoniaco y ácidos grasos volátiles en el rumen de terneros en crecimiento que consumían diferentes dietas.....30

**Figura 2:** Evolución en el tiempo (horas tras la administración del alimento) de las proporciones molares de los ácidos acético, propiónico, isobutírico, butírico, isovalérico y valérico en el rumen de terneros en crecimiento que consumían diferentes dietas.....32

*La realización del presente proyecto ha sido posible gracias a la  
financiación del mismo por parte del Centro para el Desarrollo  
Tecnológico Industrial (Proyecto CDTI IDI-20110417)*

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Dr. Antonio de Vega, por darme la oportunidad de participar en este proyecto y por su apoyo y dedicación.

Al laboratorio de Nutrición del Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos de la Facultad de Veterinaria, por todos los conocimientos transmitidos.

A D. Antonio de Mur y D. José Dosil, de la empresa Murillo Fresh Foods SL por su entera disposición.

A todas las personas que han hecho de mi estancia en Graus una experiencia única e inmejorable.

Y por último a mi familia por ser la base de todo esto.

## 1. RESUMEN

En el presente proyecto se planteó el objetivo de estudiar el efecto de la incorporación de urea, como fuente de nitrógeno degradable, a un pienso formulado con cebada como cereal mayoritario sobre la función ruminal y los parámetros productivos de terneros en cebo intensivo. También se abordó el estudio del efecto de la inclusión de orujo de oliva sobre las mismas variables.

Para ello se diseñaron dos experimentos, uno de producción y otro de estudio de la fermentación ruminal. El primero se llevó a cabo en dos fases del crecimiento de los animales: de 100 a 250 kg (Fase 1), y de 250 a 450 kg (Fase 2). La primera fase tuvo una duración de doce semanas, durante las cuales 160 terneros, en su mayoría frisonos, con una edad media de  $129 \pm 1,1$  días y un peso vivo medio de  $138 \pm 1,4$  kg al inicio del experimento fueron distribuidos, de acuerdo con su peso y edad, en ocho lotes de veinte animales cada uno, correspondientes a cuatro tratamientos con dos réplicas por tratamiento. Los tratamientos consistieron en cuatro piensos distintos: un control (C) constituido por cebada como cereal mayoritario, el mismo control sustituyendo un 20% de la proteína de la dieta (sobre materia seca-MS) por urea (U), el control sustituyendo un 10% de la MS por orujo de oliva de segunda extracción deshuesado y deshidratado (O10), y el control sustituyendo un 20% de la MS por el mismo orujo de oliva (O20). A cada tratamiento se asignó una réplica de animales pesados y otra de animales ligeros, intentando que el peso vivo medio de los cuatro tratamientos fuera similar. Los piensos de esta primera fase se formularon para que contuvieran un 16-17% de proteína, y fueron ofrecidos a los animales *ad libitum*. Como forraje se administró paja de cebada a libre disposición. Los animales se pesaron cada tres semanas, y aproximadamente a la mitad de esta primera fase de crecimiento se llevó a cabo un balance de digestibilidad con cuatro animales (de edad y peso similares) por tratamiento. Durante la segunda fase, de dieciocho semanas de duración, los piensos se formularon para contener un 14,5-15% de proteína, e igualmente fueron administrados *ad libitum* junto con paja de cebada a libre disposición. Durante esta segunda fase se registró el peso de los animales cada tres semanas.

El estudio de fermentación ruminal se llevó a cabo con ocho terneros frisonos de  $480 \pm 9,32$  kg de peso vivo medio, y una edad media de  $324 \pm 8,54$  días. El ensayo se realizó sólo con los piensos de la segunda fase de crecimiento, en un diseño *cross-over* con dos periodos, y la administración de los concentrados se realizó una vez al día cuidando de que los animales dejaran al menos un 10% de las cantidades administradas. Como forraje se distribuyó paja de cebada a libre disposición. Para cada uno de los periodos del *cross-over*, tras quince días de adaptación a las dietas se procedió a la toma de muestras de líquido ruminal a las 0 (antes de la administración de los concentrados), 4 y 8 horas tras la oferta de la comida, determinándose el pH y la concentración de amoníaco y ácidos grasos volátiles.

Los resultados de la prueba de producción no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos, con ganancias medias diarias y digestibilidades

similares en todos ellos. En el mismo sentido evolucionaron los resultados del estudio de fermentación ruminal, con ausencia de diferencias estadísticamente significativas debidas al tratamiento en pH, y concentraciones totales de amoníaco y ácidos grasos volátiles. Las únicas diferencias halladas fueron en las proporciones molares de los ácidos acético, propiónico, isovalérico y valérico a las ocho horas de muestreo del líquido ruminal, con menores proporciones, en general, de ácidos acético e isovalérico en los animales alimentados con el pienso control, y mayores proporciones de ácidos propiónico y valérico en estos mismos animales.

Las principales conclusiones del trabajo son que tanto la sustitución de un 20% de la proteína de la dieta por urea, como la sustitución de hasta un 20% de la MS por orujo de oliva de segunda extracción deshuesado y deshidratado, no afectan a los rendimientos productivos de los animales, siendo su inclusión aconsejable en los piensos de vacuno de engorde en las cantidades utilizadas en el presente ensayo cuando su precio de mercado lo justifique. Además, las mayores proporciones de ácido acético, y las menores de propiónico, en el rumen de los animales alimentados con las dietas con urea u orujo de oliva a las ocho horas tras la administración del alimento, indican el posible efecto de estos productos como moduladores de la aparición del síndrome de acidosis.

## 2. ABSTRACT

The present experiment was carried out to assess the effect of the inclusion of urea, as a source of degradable nitrogen, in a barley-based compound feed, on rumen function and performance of intensively reared beef cattle. The effect of the inclusion of olive cake on the same variables was also assessed.

To this purpose, two essays were carried out, one to study animal performance and the other to study rumen fermentation. The performance study was executed along two growing phases of the steers: from 100 to 250 kg (Phase 1), and from 250 to 450 kg (Phase 2). The first phase lasted for twelve weeks, during which 160 steers, mostly Friesian, with an average age of  $129 \pm 1.1$  days and an average live weight of  $138 \pm 1.4$  kg at the beginning of the experiment were distributed, according to their weight and age, in eight groups of twenty animals each. Two groups were assigned to one of each of the following treatments: a control compound feed based on barley as majority cereal ©, the same control with 20% crude protein (on a dry matter (DM) basis) substituted by urea (U), control with 10% DM substituted by second-extraction pitted and dehydrated olive cake (O10), and control with 20% DM substituted by the same olive cake (O20). One group of heavy and one group of light animals was assigned to each treatment, trying to maintain the average live weight of the four treatments as similar as possible. Compound feeds of this first phase were formulated to contribute 16-17% crude protein, and were offered *ad libitum* to the animals. Barley straw was used as forage. Animals were weighed every three weeks, and a digestibility trial was carried out in the middle of the period, approximately, with four animals (of similar age and weight) per treatment. During the second phase, which lasted for eighteen weeks, compound feeds were formulated to contribute 14.5-15% crude protein and were also offered *ad libitum*. Barley straw was used as forage, and animals were weighed every three weeks.

Rumen fermentation was studied using eight Friesian steers of  $480 \pm 9.32$  kg average live weight and  $324 \pm 8.54$  days average age. The trial was carried out with only the feeds used in the second growing phase, following a cross-over design with two periods. Concentrates were offered once daily allowing at least 10% refusals. Barley straw was also used as forage. For each period of the cross-over, fifteen days were allowed for adaptation to the experimental diets. Then samples of rumen liquid were taken at 0 (just before), 4 and 8 hours after feeding. The pH, and concentrations of ammonia and volatile fatty acids were determined.

The results of the production trial showed no significant differences between treatments neither for average daily gain nor for digestibility values. These matched the results obtained in the fermentation trial, which showed no significant differences in pH, and ammonia and volatile fatty acids concentration between treatments. The only differences were found in the molar proportions of acetic, propionic, isovaleric and valeric acids at eight hours post feeding. Control diet produced, in general, lower proportions of acetic and isovaleric acids, and higher proportions of propionic and valeric acids.

The main conclusions of the present work were that substitution of 20% crude protein of the control diet by urea, or substitution of up to 20% DM of the control diet by second-

extraction pitted and dehydrated olive cake do not affect animal performance of beef steers. Inclusion of those ingredients in the diet of these animals might be advisable depending on their market price. Besides, the higher proportions of acetic acid, and the lower proportions of propionic acid in the rumen of animals fed urea or olive cake suggest the possible role of these ingredients as modulators of the acidosis syndrome.

### 3. INTRODUCCIÓN

La producción de carne de vacuno en España supone un 25% de la producción nacional de carne (Bacha et al. 2005), y en los últimos años ha sido del orden de 650.000 tm/año (el 1% de la producción mundial (FAO 2010)), con un valor económico superior a 4000 millones de euros y un comercio equilibrado en cuanto a importaciones y exportaciones (De Blas et al. 2008). La mayor parte de la carne de vacuno producida en España es de tipo rosado, procedente de animales jóvenes, sacrificados a los 8-10 meses de edad y 350-400 kg de peso vivo (PV) en el caso de las razas precoces procedentes de rebaños lecheros, y en torno a los 12 meses y 450 – 500 kg en el caso de las razas de carne, procedentes de animales pastencos criados con sus madres (García-Rebollar et al. 2008). Sin embargo, desde la crisis de la encefalopatía espongiiforme bovina la mayor parte de los animales suelen sacrificarse entre 9 y 11 meses, debido al coste que supone la eliminación de los tejidos de riesgo en animales de mayor edad, y a la prima de sacrificio que se recibe cuando los animales son sacrificados con más de 9 meses (García-Rebollar et al. 2008). La alimentación de estos animales consiste, fundamentalmente, en pienso distribuido *ad libitum* y forraje (generalmente paja de cereales), suponiendo el concentrado en torno al 90% del total de la materia seca (MS) consumida por el animal. Este sistema de producción, característico de la zona mediterránea, viene en gran parte determinado por la escasa superficie pastable o forrajera, que debe ser utilizada en su mayor parte para el mantenimiento de las madres.

Este tipo de dietas, en las que los cereales suelen representar más del 50% de la materia seca ingerida, suponen un enorme coste para el ganadero (alrededor del 75-80% de los costes de producción de las explotaciones intensivas de ganado vacuno de carne (Richards and Hicks 2007)), situación agravada en los últimos años debido a la difícil situación del mercado de cereales y otras materias primas (Maluenda 2008; Rey 2008). Por tanto, abaratar al máximo el suministro alimentario es de capital importancia de cara a rentabilizar el cebo intensivo del ganado vacuno de carne.

La utilización de subproductos provenientes de la industria agroalimentaria es una práctica tan antigua como la domesticación de los propios animales, y una solución técnica adecuada, en muchos casos, para reducir el coste de las raciones ((Preston 1984). Además, estos productos no entran, generalmente, en la cadena alimentaria humana, y su consumo por parte de los animales evita el coste de su almacenamiento o destrucción (Molina-Alcaide and Yáñez-Ruiz 2008), alcanzándose un claro beneficio ambiental.

La producción de aceite de oliva es un proceso industrial que genera subproductos con un alto índice de toxicidad medioambiental. A su vez, el denominado orujo de oliva, uno de los subproductos de esta industria, presenta contenidos de alrededor del 8% en grasa de alta calidad, con elevadas proporciones de los ácidos grasos insaturados palmitoleico y oleico (Sumitra, Singh et al. 2007). En España hay 2.092.800 hectáreas de olivos, lo que supone el 22% del área total ocupada por este cultivo en el mundo. Así mismo, la producción de aceitunas es de 8.014.000 toneladas anuales mientras que la de aceite asciende a 1.487.000 toneladas anuales, el 40 y el 45% de la producción mundial

respectivamente (FAO 2010). Este volumen genera entre 2.5 y 6 millones de toneladas de subproducto anuales (Fernández-Bolaños, Rodríguez et al. 2006).

El orujo de oliva posee una toxicidad potencial, bien por la presencia de altas cantidades de metales pesados (Fernández-Escobar, Moreno et al. 1999) o por el alto contenido en compuestos polifenólicos (Martín García, Moumen et al. 2003), lo que hace que los límites máximos a incluir en el pienso recomendados por FEDNA (Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal; <http://www.fundacionfedna.org>) sean muy conservadores. Los estudios previos sobre la inclusión de orujo de oliva en la alimentación del ganado han demostrado sus ventajas tanto económicas (Hadjipanayiotou 1999) como en términos de rendimiento en la producción. Se ha estudiado su efecto en ovejas y cabras (Martín García, Moumen et al. 2003), así como en vacas lecheras (Hadjipanayiotou 1999), pero hasta la fecha no parece existir ninguna publicación en la que haya sido ensayado el orujo de oliva como parte de las dietas para el ganado vacuno en crecimiento. Además, en la mayoría de los casos se ha trabajado con orujo de oliva de primera extracción, no existiendo datos en la bibliografía sobre la utilización del residuo de la extracción de aceite de orujo, cada vez más demandado y cuyo contenido en grasa se reduce hasta el 2-3% desde el 9% del orujo de oliva.

El primer objetivo del presente trabajo fue, por tanto, el estudio de los parámetros productivos y de fermentación ruminal del ganado vacuno en crecimiento alimentado con dietas que incluyan orujo de oliva de segunda extracción, deshuesado y deshidratado, en proporciones del hasta el 20% de la materia seca total.

Ya a finales del siglo XIX, investigadores alemanes plantearon la posibilidad de sustituir parte de la proteína de la dieta en rumiantes por urea. Sin embargo, este hecho no fue reconocido hasta 1937, y fue Reid (1953) quien estableció, en una amplia revisión bibliográfica, las bases de la utilización de la urea en la dieta, afirmando que un bajo nivel de proteína y un alto nivel de almidón favorecen el aprovechamiento de aquélla por parte de los microorganismos del rumen. Johnson (1976), por su parte, concluyó que un alto ritmo de fermentación del almidón favorece el aprovechamiento de los compuestos nitrogenados no proteicos (urea).

En el caso de animales alimentados con cebada como cereal mayoritario, cuyo almidón presenta un alto ritmo de fermentación ruminal, la adición de urea debería de suponer una ventaja para la funcionalidad del rumen por su alta degradabilidad. El nitrógeno se liberaría rápidamente en el rumen, produciéndose, al menos teóricamente, una sincronización en la disponibilidad de energía y nitrógeno para los microorganismos del rumen, mejorando su síntesis. Sin embargo, Reynolds and Kristensen (2008) concluyeron, en una revisión bibliográfica, que estos supuestos beneficios de la sincronización de la liberación de nitrógeno y energía no son observados con frecuencia en la realidad.

Constatada la controversia existente acerca de los beneficios reales de una sincronización entre la liberación de energía y nitrógeno en el rumen, el segundo objetivo del trabajo fue determinar el efecto de la sustitución del 20% de la proteína de una dieta

constituida por cebada como cereal mayoritario por urea, sobre los rendimientos productivos y la fermentación ruminal del ganado vacuno en crecimiento.

## **4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

### **4.1. IMPORTANCIA DE LA GANADERÍA DE VACUNO DE CARNE**

El ganado vacuno proporciona carne y leche que satisfacen las exigencias proteicas de la dieta del ser humano. Además, el cuero o los huesos constituyen la materia prima de diversas industrias y el abono orgánico es aprovechado en los suelos agrícolas, y todavía hoy el vacuno es un tipo de ganado cuyos individuos son empleados como animales de tiro en muchas zonas del planeta.

Según datos de la FAO, en el año 2010 el censo de vacuno en el mundo era de 1.428 millones de cabezas, de los que casi seis millones (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (MAGRAMA) 2011) correspondían a España en Noviembre de 2011 (Tabla 1). En este mismo mes, la aportación de Aragón fue de 297.692 cabezas (MAGRAMA 2011).

De esta cabaña se sacrificaron más de 295 millones de cabezas en el mundo (FAO, 2010), con una producción de carne de más de 62 millones de toneladas, mientras que en España (MAGRAMA, 2011) se sacrificaron más de 2 millones de animales, con una producción de más de 600.000 toneladas. Las cifras para Aragón (Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino (MARM) 2010) fueron de 101.361 cabezas sacrificadas y una producción de 28.343 toneladas de carne.

#### **4.1.1. SISTEMAS DE PRODUCCIÓN DE CARNE DE VACUNO**

##### **4.1.1.1. Sistema extensivo**

El sistema extensivo de producción animal es aquél que se caracteriza por basarse en el aprovechamiento por especies herbívoras domésticas de la vegetación arbustiva y herbácea, y representar los animales un elemento más de todos los que integra el ecosistema pastoral (Buxadé 1995). El beneficio económico de este sistema se basa principalmente en el aprovechamiento de unos recursos vegetales difícilmente utilizables por otras vías, y la producción de terneros dependerá principalmente del manejo que se lleve a cabo de las vacas madres.

**Tabla 1:** Censo de ganado bovino en España en el mes de noviembre de 2011, distribuido por categorías (MAGRAMA 2011)

Categoría	Censo (nº de cabezas)
Animales menores de 12 meses	2.078.036
Destinados a sacrificio	1.379.928
Otros machos	225.713
Otras hembras	472.395
Animales de 12 a 24 meses	774.707
Machos	167.793
Hembras para sacrificio	130.484
Hembras para reposición	476.430
Animales de dos o más años	3.070.370
Machos	142.871
Novillas para sacrificio	29.724
Novillas otras	278.998
Vacas de ordeño	797.894
Vacas de no ordeño	1.820.883
<b>Total de animales</b>	<b>5.923.112</b>

Los principales factores que afectan a la productividad de terneros en pastoreo (junto con el tipo de animal y el empleo de suplementos alimenticios) son la carga ganadera y el método de pastoreo (Buxadé 1995). La carga ganadera se define como el número de animales existentes por unidad de superficie durante un periodo determinado de tiempo. El principal efecto de esta carga ganadera es el aumento o disminución de la competencia por una cantidad limitada de hierba. Por su parte, cualquier método de pastoreo debe contar con un equilibrio entre las necesidades para un nivel aceptable de crecimiento del animal y una eficiente utilización del pasto. Una primera fecha de pastoreo tardía y un intervalo mayor en la frecuencia del pastoreo hacen que la producción de materia seca aumente e igualmente lo haga, aunque en menor medida, la de materia orgánica. Sin embargo, el valor de la digestibilidad se verá afectado adversamente por el retraso de la salida al pasto y el aumento del tiempo de reposo. Ha de buscarse por tanto, un equilibrio entre una defoliación frecuente que dará lugar a una menor tasa de producción de materia seca pero de alta digestibilidad, y una más tardía y menos frecuente que producirá una alta cantidad de materia seca pero de baja digestibilidad.

#### 4.1.1.2. Sistema intensivo

En el caso de los sistemas intensivos, la alimentación está basada en el suministro de raciones muy energéticas, compuestas esencialmente por concentrados y pequeñas cantidades de paja de cereales. Con esto se pretende reducir al máximo el tiempo de cebo de estos animales, consiguiendo elevadas ganancias medias diarias (GMD).

Existen diferentes tipos de producción intensiva en función del material animal del que se parte, de cuál sea la edad de sacrificio, raza y sistema de manejo entre otras características. Se pueden distinguir tres tipos principales de producción:

- a) Producción de terneros lactantes o mamones: el principal objetivo es conseguir un buen arranque del ternero y alcanzar unos adecuados índices técnicos que permitan iniciar el cebo en las mejores condiciones posibles. Este proceso dura alrededor de 12 semanas, introduciendo progresivamente el pienso en la alimentación del animal.
- b) Producción de terneros: puede existir una fase previa de adaptación (21-30 días) tras la cual los animales se alojan en grupos homogéneos en las naves de cebo donde comienza el engorde intensivo con alimentación *ad libitum*. Los animales permanecerán en estas naves hasta que alcancen el peso deseado por el ganadero, alrededor de los 400-450 kg.
- c) Producción de carne de vaca: el material animal suele ser hembras adultas de desecho o de reemplazo procedentes de ganados lecheros que han finalizado su producción láctea o que no han sido capaces de mantener una fecundidad adecuada. El principal objetivo de este tipo de producción es obtener canales lo más pesadas posible pero sin excesiva grasa. El peso final suele estar en 660-730 kg.

La mayor parte de la carne de vacuno producida en España es de tipo rosado, procedente de animales jóvenes, sacrificados a los 8-10 meses de edad y 350-400 kg de peso vivo (PV) en el caso de las razas precoces procedentes de rebaños lecheros, y en torno a los 12 meses y 450-500 kg en el caso de las razas de carne, procedentes de animales pastencos criados con sus madres (García-Rebollar et al. 2008). Sin embargo, desde la crisis de la encefalopatía espongiforme bovina la mayor parte de los animales suelen sacrificarse entre 9 y 11 meses, debido al coste que supone la eliminación de los tejidos de riesgo en animales de mayor edad, y a la prima de sacrificio que se recibe cuando los animales son sacrificados con más de 9 meses (García-Rebollar et al. 2008). La alimentación de estos animales consiste, fundamentalmente, en pienso distribuido *ad libitum* y forraje (generalmente paja de cereales), suponiendo el concentrado en torno al 90% del total de la materia seca (MS) consumida por el animal. Este sistema de producción, característico de la zona mediterránea, viene en gran parte determinado por la escasa superficie pastable o forrajera, que debe ser utilizada en su mayor parte para el mantenimiento de las madres.

La proporción que suponen los costes de alimentación dentro de la producción de carne de vacuno son variables y difícilmente predecibles con exactitud. Según el informe “Resultados ejercicio económico 2010 Vacuno de cebo”, de la Red Nacional de Granjas Típicas (RENGRATI) la alimentación supone un coste aproximado de entre 100 y 190 euros por cada 100 kg de canal, lo que se traduce en un 40-45% de los costes totales de la explotación, incluyendo todas las inversiones. Por tanto, las dietas utilizadas típicamente en los sistemas intensivos de producción, en las que los cereales suelen representar más del 50% de la materia seca ingerida, suponen un enorme coste para el ganadero. Abaratar al máximo el suministro alimentario es de capital importancia, pues, de cara a rentabilizar este tipo de explotaciones.

## 4.2.UTILIZACIÓN DE SUBPRODUCTOS DEL ACEITE DE OLIVA EN LA ALIMENTACIÓN DEL GANADO

De los más de 9 millones de ha destinadas al cultivo del olivar en el mundo (FAO, 2010), más del 27% (2.580.577 ha; MAGRAMA 2011) están situadas en España, correspondiendo poco más del 2% del conjunto nacional (59.774 ha) a la Comunidad Autónoma Aragonesa (MAGRAMA 2011).

Además, nuestro país produce más del 42% (1.384.383 toneladas; MARM 2009) del aceite de oliva del mundo (3.269.249 toneladas; FAO 2010), aportando nuestra comunidad un discreto 0,9% (12.482 toneladas) a la producción nacional (MARM 2009).

El 93% de la superficie nacional de olivos se destina a la producción de aceite, por tan solo el 7% dedicado a la producción de la denominada “aceituna de mesa” (MARM 2009), obteniéndose una gran variedad de caldos (Tabla 2).

**Tabla 2:** Producción de aceite de oliva (toneladas/año) según clases, en España y Aragón (MARM 2009)

	Extra	Virgen	Lampante	Total
España	485.682	441.081	457.620	1.384.383
Aragón	9.391	2.232	859	12.482

La industria aceitera genera un gran volumen de subproductos difícilmente aprovechables por el ser humano. Entre ellos se encuentra el orujo de oliva, una mezcla de piel, pulpa y hueso con un contenido en proteína de entre el 5 y el 9% (Tajori 2009) y del 8% en grasa de alta calidad (Sumitra, Singh et al. 2007). El empleo de este subproducto como alimento para el ganado conlleva una serie de ventajas, tales como la no utilización de productos consumibles por el hombre y el abaratamiento del proceso de producción (Rowghani, Zamiri et al. 2008), así como evitar el problema medioambiental producido por el alto contenido en polifenoles, materia orgánica, sal y ácidos orgánicos de bajo peso molecular (Asfi, Ouzounidou et al. 2012).

### 4.2.1. PROCESO DE FABRICACIÓN DEL ACEITE DE OLIVA, Y SUBPRODUCTOS QUE GENERA

El aceite de oliva es el zumo oleoso de las aceitunas que se separa de los demás componentes del fruto, y representa aproximadamente el 2,1% del total de la producción mundial de aceites y grasas (Barranco et al. 2006). Entre las operaciones fundamentales del proceso de elaboración del aceite se encuentran:

Operaciones preliminares exteriores: recolección, separación, transporte...

Operaciones preliminares interiores: recepción, limpieza, lavado...

Preparación de la pasta: molienda y batido.

Separación sólido-líquido: por presión, por centrifugación...

Separación líquido-líquido: por decantación, por centrifugación...

Almacenamiento.

La separación sólido-líquido por centrifugación, la más utilizada en la actualidad, puede ser de dos o de tres fases. En el caso de un sistema de centrifugación continuo de tres fases, la pasta se disocia en tres componentes: aceite (20%), orujo (30%) y alpechín (50%) (Fernández-Bolaños, Rodríguez et al. 2006). En el caso de un sistema de centrifugación de dos fases, el orujo y el alpechín salen juntos por una salida única en el denominado “alperujo”.

En el caso del orujo extraído en el sistema de tres fases, la cantidad de agua es muy variable según la variedad y el proceso seguido. Los principales constituyentes del orujo son celulosa, lignina, proteína, residuos de aceite y polifenoles (Brlék, Voc’á et al. 2012). La producción mundial se sitúa en los 6,8 millones de toneladas, mientras que la española es aproximadamente de 2,5-2,6 millones de toneladas (Fernández-Bolaños, Rodríguez et al. 2006).

#### 4.2.2. VALOR NUTRITIVO DEL ORUJO DE OLIVA

El valor nutritivo del orujo de oliva varía con el instrumental y la técnica de extracción seguida, por lo que existen diferentes tipos de orujo tales como orujo sin procesar, orujo extraído, orujo parcialmente deshuesado y orujo extraído parcialmente deshuesado (Sadeghi, Yansari et al. 2009). El año de extracción del orujo también produce variaciones de su calidad importantes (Molina Alcaide, Yáñez Ruiz et al. 2003). Su uso está limitado por su bajo valor nutritivo, altos niveles de fibra neutro detergente (FND), fibra ácido detergente (FAD) (Nefzaoui 1983) y taninos condensados (Mangan 1988; Martín García, Moumen et al. 2003), estacionalidad de la producción (Sansoucy et al. 1985) y baja degradabilidad de los componentes de la pared celular (Filya et al. 2006; Teimouri et al. 2007). Teimouri et al. (2007) encontraron diferencias en la degradabilidad de la materia seca (MS) de los diferentes subproductos, por lo que resulta necesario definir el tipo de orujo al que se hace referencia debido a que la composición química puede variar entre los diferentes tipos. En la Tabla 3 se muestra la composición química de los principales tipos de orujo.

**Tabla 3:** Composición química (en % de la materia seca) de los principales tipos de orujo

	MS	OM	PB	FB	FND	FAD	EE	LIG
Sadeghi et al. (2009)								
Orujo 2S sin procesar	87,6		7,6	38,7	68,9	51,2	5,7	31,3
Orujo 2S extraído	86,7		7,2	39,6	71,3	56,5	3,4	32,3
Orujo 2S parcialmente deshuesado	88,1		8,8	22,1	50,3	30,5	6,4	22,5
Orujo 2S extraído parcialmente deshuesado	87,5		9,7	21,4	54,3	36,3	3,3	27,1
Molina-Alcaide y Yáñez-Ruiz (2003)								
Orujo 3S sin procesar-A	64,1	86,8	5,72		66,2	49,7		30,9
Orujo 2S sin procesar-B	36,3	93,9	5,69		70,0	57,1		36,7
Orujo 2S sin procesar-C	40,9	96,6	5,50		65,5	50,1		31,5
Orujo 2S sin procesar-D	34,5	95,0	7,06		59,2	51,1		32,7
Orujo 2S sin procesar-E	37,2	91,7	5,69		64,8	51,6		33,1
Orujo 2S sin procesar-F	37,1	89,9	6,75		57,4	49,57		35,2
Orujo 2S sin procesar-G	41,0	95,2	5,31		73,0	57,3		36,0
Orujo 2S sin procesar-H	52,1	88,0	7,25		61,2	46,3		28,8
Orujo 2S sin procesar-I	51,3	80,7	4,69		58,6	46,3		28,5
Orujo 2S sin procesar-J	34,1	91,1	7,25		61,6	51,4		32,6
Orujo 2S extraído-J (1996)	87,6	85,1	8,13		60,7	53,0		34,7
Orujo 2S extraído-J (1997)	87,6	88,9	9,88		63,2	43,0		24,1
Orujo 2S extraído-J (1998)	88,2	89,2	9,64		62,3	41,6		22,1
Orujo 2S extraído-K	93,7	91,3	5,38		72,7	61,2		33,8
Martín García et al (2003)								
Orujo 2S extraído	87,1		7,9		62,4	54,0		32,8
Sansoucy et al. (1985)								
Orujo sin procesar	75-80		5-10	35-50			8-15	
Orujo extraído	85-90		8-10	35-40			4-6	
Orujo parcialmente deshuesado	80-95		9-12	20-30			15-30	
Orujo extraído parcialmente deshuesado	85-90		9-14	15-35			4-6	

2S: orujo obtenido por un sistema de dos fases; 3S: orujo obtenido por un sistema de tres fases; A,B,C,D,E,F,G,H,I,J, K identifican diferentes molinos.

Esta variabilidad en la composición, así como la variabilidad en la forma de suministro, lleva a una variabilidad en la ingesta, digestibilidad *in vitro* y degradación y fermentación ruminal de los diferentes tipos de orujo. Dicha variabilidad ha sido estudiada en corderos, ovejas y cabras (Molina-Alcaide and Yáñez-Ruiz 2008).

En cuanto a la digestibilidad *in vitro*, se ha encontrado una alta correlación con la obtenida *in vivo* en ganado ovino (Aguilera and Molina 1986), aunque se han hallado resultados contradictorios dependiendo del origen del medio de incubación. Así, Martín García, Moumen et al. (2003) encontraron valores más altos de digestibilidad empleando

líquido ruminal de cabra que de oveja, mientras que Hadjipanayiotou (1999) halló lo contrario.

Sobre la degradación ruminal, Martín García, Moumen et al. (2003) determinaron valores entre 0,38 y 0,44 de degradabilidad efectiva de la proteína bruta en el rumen, que muestran un bajo aporte de nitrógeno por parte del orujo. La suplementación con polietilenglicol mejoró estos valores en carneros, pero no en cabras (Martín García, Yáñez Ruiz et al. 2004). Nefzaoui and Vanbelle (1986), por su parte, obtuvieron un aumento de la degradabilidad de la materia orgánica y de la FAD en el rumen mediante la adición de amoníaco al orujo. Por otro lado, Al-Masri (2003) determinó unos valores de producción de gas *in vitro* de entre 18,8 y 36,4 ml gas/g orujo.

No existen demasiados estudios sobre parámetros relacionados con el valor proteico del orujo de oliva, tales como la composición y digestibilidad intestinal de la proteína no degradada en el rumen y sus aminoácidos. La composición en aminoácidos de la proteína del orujo no degradada en el rumen es alta en ácido glutámico, alanina y valina, y baja en histidina, tirosina y lisina en caprino y ovino. Por otra parte, tanto en caprino como en ovino la digestibilidad intestinal aparente de la proteína del orujo y su fracción no degradada en el rumen fue de 0,86 y 0,37, respectivamente (Martín García, Yáñez Ruiz et al. 2004).

Los primeros estudios sobre fermentación microbiana en el rumen determinaron que la concentración de  $\text{NH}_3\text{-N}$  en ovejas alimentadas con orujo *ad libitum* era menor que los valores mínimos sugeridos para una óptima actividad microbiana. Por otra parte, la forma de suministro y de obtención del orujo influyen en su fermentación ruminal. Así, Nefzaoui and Vanbelle (1986) hallaron un mayor tiempo de rumia en corderos alimentados con ensilado de orujo que en corderos alimentados con pellets del mismo material, mientras que Martín-García, Yáñez-Ruiz et al. (2004) encontraron bajos niveles de ácidos grasos volátiles (15,7 mmol/l),  $\text{NH}_3\text{-N}$  (0,60 mg/100ml) y nitrógeno microbiano (11,3 g/kg de carbohidrato digerido) en caprino y ovino alimentados con orujo seco obtenido en un sistema de dos fases. Ruiz, Garcia et al. (2004), por su parte, sustituyeron parte del heno de alfalfa de una dieta para caprino y ovino por un concentrado formulado con cebada y orujo seco obtenido de un sistema de dos fases, obteniendo valores característicos de una dieta de calidad media (ácidos grasos volátiles, 65-98 mmol/l;  $\text{NH}_3\text{-N}$ , 9-20 mg/100ml; pH, 6,3-6,8; recuento total de protozoos,  $2,25\text{-}11,4 \times 10^5$  células/ml). La estimación de la síntesis proteica en el rumen de cabras fue mayor con dietas que incluían orujo que con las que incluían heno de alfalfa (73,1 y 51,9 g de nitrógeno microbiano/kg de materia orgánica digestible en el rumen, respectivamente), aunque similar en carneros (39,5 y 41,59 g de nitrógeno microbiano/kg de materia orgánica digestible en el rumen, respectivamente), lo que se traduce en un mejor aprovechamiento de este subproducto por parte del ganado caprino.

Respecto a la ingestión y a la digestibilidad aparente *in vivo* del orujo de oliva, Nefzaoui and Vanbelle (1986) observaron en ovino un mayor consumo de orujo suministrado en forma de pellets (116 gMS/PV<sup>0,75</sup>/día) que ensilado (99 gMS/PV

PV<sup>0,75</sup>/día). En este mismo estudio se apuntó que el suministro en forma de pellets reduce la digestibilidad de la materia orgánica, probablemente debido a un menor tiempo de retención en el rumen. Por su parte, Hadjipanayiotou (1999) registró una mayor ingestión en ovejas lactantes en comparación con cabras y vacas lactantes si parte del forraje original era sustituido por orujo ensilado, mientras que Ben Salem, Nefzaoui et al. (2000) determinaron que existía un menor consumo en ovino que en caprino cuando la base de la dieta era *Acacia cyanophylla*. En ovejas lactantes, Chiofalo, Liotta et al. (2004) observaron ingestiones de 700 g/día de pellets que incluían orujo de oliva (200g/kg MS).

#### 4.2.3. TOXICOSIS POTENCIAL DEL ORUJO DE OLIVA

Yáñez-Ruiz and Molina-Alcaide (2007) no encontraron ningún signo de daño renal o hepático en animales alimentados a base de orujo deshidratado obtenido mediante un sistema de extracción de dos fases, en comparación con ovinos y caprinos tratados con polietilenglicol. Las funciones renales y hepáticas fueron estudiadas mediante la medición de las concentraciones de creatinina y la actividad de la fosfatasa alcalina en la sangre de los animales, llegando a la conclusión de que los taninos del orujo, administrado correctamente, no tienen efecto perjudicial sobre el ganado ovino y caprino.

Sin embargo, otros estudios afirman que el orujo de oliva presenta una toxicidad potencial, bien por la presencia de altas cantidades de metales pesados (Fernández-Escobar, Moreno et al. 1999) o por el alto contenido en compuestos polifenólicos (Martín García, Moumen et al. 2003). No parecen existir trabajos sobre el posible efecto tóxico del orujo de oliva en rumiantes mayores.

#### 4.3. EFECTO DE LA INCLUSIÓN DE UREA EN LAS RACIONES PARA VACUNO EN CRECIMIENTO PRODUCIDO DE FORMA INTENSIVA

La urea es identificada como un compuesto nitrogenado no proteico, cristalino y sin color, que aparece como producto final del metabolismo del nitrógeno en casi todos los mamíferos, siendo muy soluble en agua e higroscópica. Los microorganismos del rumen hidrolizan la urea utilizando el producto de esta hidrólisis (amoníaco) para la síntesis de proteína microbiana.

La urea es de elevada degradabilidad en el rumen, e inmediatamente después de ser consumida es hidrolizada en amoníaco y anhídrido carbónico mediante ureasas bacterianas. A su vez, los carbohidratos son degradados por otros microorganismos para producir ácidos grasos volátiles.

Investigadores alemanes plantearon la posibilidad de sustituir parte de la proteína de la dieta en rumiantes por urea a finales del siglo XIX. Sin embargo, este hecho no fue reconocido hasta 1937 y fue Reid (1953) quien estableció, en una amplia revisión bibliográfica, las bases de la utilización de la urea en la dieta, afirmando que un bajo nivel de proteína y un alto nivel de almidón favorece el aprovechamiento de aquélla por parte de los microorganismos del rumen. Johnson (1976), por su parte, concluyó que un

alto ritmo de fermentación del almidón favorece el aprovechamiento de los compuestos nitrogenados no proteicos (urea).

En el caso de animales alimentados con cebada como cereal mayoritario, cuyo almidón presenta un alto ritmo de fermentación ruminal, la adición de urea debería de suponer una ventaja para la funcionalidad del rumen por su alta degradabilidad. El nitrógeno se liberaría rápidamente en el rumen, produciéndose, al menos teóricamente, una sincronización en la disponibilidad de energía y nitrógeno para los microorganismos del rumen, mejorando su síntesis. Sin embargo, Reynolds and Kristensen (2008) concluyeron, en una revisión bibliográfica, que estos supuestos beneficios de la sincronización de la liberación de nitrógeno y energía no son observados con frecuencia en la realidad.

Entre los inconvenientes del uso de urea se encuentra la posibilidad de que el amoníaco sea liberado por la urea mucho más rápido que la capacidad de los microorganismos del rumen para procesarlo. El exceso de amoníaco será absorbido a través de las paredes del rumen y llevado al hígado, pudiendo ocasionar alcalosis o intoxicación por amoníaco. Satter et al. (1972) fueron los primeros en determinar que, a partir de una concentración de 5mg/100ml de amoníaco en el rumen, la síntesis microbiana no se veía incrementada.

Los efectos de la inclusión de urea en bovino han sido estudiados en otros campos: en reproducción, la urea se relaciona con un descenso anecdótico de fertilidad (Tamminga 2006), sin existir estudios realmente concluyentes al respecto (Kertz 2010). En ganado vacuno de leche existe controversia sobre el posible efecto beneficioso de la adición de urea. Así, Morozov (1980); Brito and Broderick (2007); Broderick and Reynal (2009), entre otros, constataron un descenso de la producción de leche con la inclusión de urea en la dieta, mientras que Cameron, Klusmeyer et al. (1991); Tekeba (2012), por ejemplo, hallaron un efecto positivo sobre la producción y calidad de leche. Otros estudios no muestran variaciones en estos parámetros (Prasad, Reddy et al. 1998; Souza, Almeida et al. 2010).

## **5. OBJETIVOS**

La revisión de la bibliografía disponible ha puesto de manifiesto la escasa información existente sobre la utilización de orujo de oliva en las dietas para animales rumiantes, siendo esta información nula en el caso del ganado vacuno de carne. Por otra parte, la gran mayoría de los estudios se han realizado empleando orujo de oliva, y en ningún caso se ha trabajado con el residuo de la extracción del aceite de orujo. Además, existe una controversia importante acerca de los beneficios reales de una sincronización entre la liberación de energía y nitrógeno en el rumen.

Por todo ello, el objetivo del presente estudio fue doble: 1.- por un lado, estudiar los parámetros productivos y de fermentación ruminal del ganado vacuno en crecimiento alimentado con dietas que incluyan orujo de oliva de segunda extracción, deshuesado y deshidratado, en proporciones del hasta el 20% de la materia seca total, y 2.- por otro lado, estudiar el efecto de la sustitución del 20% de la proteína de la dieta por urea sobre los parámetros productivos y de fermentación ruminal del ganado vacuno en crecimiento.

## 6. MATERIAL Y MÉTODOS

### 6.1. ANIMALES, DIETAS Y DESARROLLO EXPERIMENTAL

Para alcanzar los objetivos planteados se diseñaron dos experimentos, uno de producción y otro de estudio de la fermentación ruminal. El primero se llevó a cabo en las instalaciones de la empresa Murilló Fresh Foods SL, en Santas Masas (Castigaleu, Huesca), mientras que el segundo se realizó en las instalaciones que el Servicio de Experimentación Animal de la Universidad de Zaragoza posee en la Facultad de Veterinaria. En este segundo caso el manejo fue realizado de acuerdo con los criterios establecidos por la Unión Europea (Directiva 86/609/CEE), y las legislaciones española (Real Decreto 1201/2005) y aragonesa (Ley 11/2003) sobre experimentación animal. El protocolo experimental fue aprobado por la Comisión Ética Asesora para la Experimentación Animal de la Universidad de Zaragoza.

El ensayo de producción se llevó a cabo en dos fases del crecimiento de los animales: de 100 a 250 kg (Fase 1), y de 250 a 450 kg (Fase 2). La primera fase tuvo una duración de doce semanas, durante las cuales 160 terneros, en su mayoría frisonos, con una edad media de  $129 \pm 1,1$  días y un peso vivo medio de  $138 \pm 1,4$  kg al inicio del experimento, fueron distribuidos, de acuerdo con su peso y edad, en ocho corrales de veinte animales cada uno, correspondientes a cuatro tratamientos con dos réplicas por tratamiento. Los tratamientos consistieron en cuatro piensos distintos: un control (C) constituido por cebada como cereal mayoritario, el mismo control sustituyendo un 20% de la proteína de la dieta (sobre materia seca-MS) por urea (U), el control sustituyendo un 10% de la MS por orujo de oliva de segunda extracción deshuesado y deshidratado (92,51% de materia orgánica-MO, 12,28% de proteína bruta-PB (de la cual el 59,77% estuvo ligado a la fibra ácido detergente-FAD), 2,25% de extracto etéreo-EE, 61,13% de fibra neutro detergente-FND, 49,10% de FAD y 26,00% de lignina ácido detergente-LAD) (O10), y el control sustituyendo un 20% de la MS por el mismo orujo de oliva (O20). A cada tratamiento se asignó una réplica de animales pesados y otra de animales ligeros, intentando que el peso vivo medio de los cuatro tratamientos fuera similar. Los piensos de esta primera fase (Tabla 4) se formularon para que contuvieran un 16-17% de proteína, y fueron ofrecidos a los animales *ad libitum*. Como forraje se administró paja de cebada a libre disposición, y los terneros tuvieron libre acceso a agua de la red de abastecimiento durante todo el periodo experimental. Los animales se pesaron cada tres semanas, y aproximadamente a la mitad de esta primera fase de crecimiento se llevó a cabo un balance de digestibilidad, de ocho días de duración (tres de adaptación a las jaulas de metabolismo y cinco de toma de datos), con cuatro animales (de edad y peso similares) por tratamiento. Durante este periodo, los piensos y la paja fueron ofrecidos una vez al día (a las 09:00 am), en comederos separados, en cantidades que se ajustaban diariamente para permitir al menos un 10% de reuso. Se tomaron muestras diarias del pienso y de la paja ofrecidos a cada animal, agrupándose posteriormente en una muestra única por individuo. La mitad de esta muestra fue desecada a 60 °C durante 48 horas para determinar el contenido en MS, y la otra mitad fue molida a través de una criba de 1 mm de diámetro y almacenada en botes de plástico para su posterior análisis químico. El mismo procedimiento fue seguido con

los residuos de pienso y paja, que fueron pesados diariamente y agrupados en una muestra única por animal. La producción diaria de heces de cada ternero fue registrada, y un 5% recogido y almacenado a -18 °C para conformar una muestra única por animal. Esta muestra fue descongelada, desecada a 60 °C durante 48 horas para determinar el contenido en MS, y molida a través de una criba de 1 mm de diámetro, almacenándose en botas de plástico hasta su posterior análisis.

**Tabla 4:** Composición, en g/kg, de los piensos utilizados en la primera fase del experimento

	C	U	O10	O20
Maíz	154,93	155,02	139,18	123,48
Cebada	445,73	445,99	400,41	355,25
Soja 44	118,97	128,01	106,82	94,78,
Girasol 30	60,03	33,30	53,93	47,84
Salvado y tercerillas	141,98	142,06	127,54	113,16
Gluten maíz 20	29,93	32,24	26,87	23,81
Aceite de palma	9,02	9,03	8,11	7,19
Carbonato cálcico	22,97	21,86	20,66	18,35
Sal terrestre	12,68	19,01	11,42	10,14
Corrector	3,76	3,76	3,38	3
Pulpa de cítricos	0	8,19	0	0
Urea	0	1,53	0	0
Orujo de aceituna	0	0	101,68	203,00

C: pienso control, constituido por cebada como cereal mayoritario; U: pienso C sustituyendo un 20% de la proteína de la dieta (sobre materia seca-MS) por urea; O10: pienso C sustituyendo un 10% de la MS por orujo de oliva de segunda extracción deshuesado y deshidratado; O20: pienso C sustituyendo un 20% de la MS por el mismo orujo de oliva.

En la segunda fase de crecimiento, de dieciocho semanas de duración, los piensos (Tabla 5) se formularon para contener un 14,5-15% de proteína, e igualmente fueron administrados *ad libitum* junto con paja de cebada a libre disposición. Durante esta segunda fase se registró el peso de los animales cada tres semanas.

El estudio de fermentación ruminal se llevó a cabo con ocho terneros frisonos de 480±9,32 kg de peso vivo medio y una edad media de 324±8,54 días, provistos de cánula ruminal de 1,0 cm de diámetro interno y alojados en corrales individuales. El ensayo se realizó sólo con los piensos de la segunda fase de crecimiento, en un diseño *cross-over* con dos periodos y dos réplicas de cada tratamiento en cada periodo, y la administración de los concentrados y de la paja se realizó una vez al día (09:00 horas) en cantidades suficientes para que los animales dejaran al menos un 10% de reusos. Como forraje se distribuyó paja de cebada a libre disposición, y los terneros tuvieron libre acceso a agua de la red de abastecimiento durante todo el periodo experimental. Los piensos y la paja fueron administrados en comederos separados, y se tomaron muestras representativas de todos ellos durante la segunda semana del periodo de adaptación a las dietas de cada periodo del *cross-over*, desecándose una parte a 60 °C durante 48 horas para determinar el contenido en MS, y moliéndose el resto a través de una criba de 1 mm de diámetro. Estas últimas muestras fueron almacenadas en botes de plástico hasta su análisis. Las

muestras de piensos y paja de los dos periodos del *cross-over* fueron agrupadas en una muestra única para su análisis. Durante el segundo periodo, los animales que habían consumido el tratamiento C durante el primero pasaron a consumir el tratamiento U (y viceversa), y los que habían consumido el tratamiento O10 pasaron a consumir el O20 (y viceversa). Para cada uno de los periodos del *cross-over*, tras 15 días de adaptación a las dietas se procedió a la toma de muestras de líquido ruminal a las 0 (antes de la administración de los concentrados), 4 y 8 horas tras la oferta de la comida (09:00, 13:00 y 17:00 horas, respectivamente). Para la extracción de las muestras se empleó una sonda con bomba manual conectada a un matraz kitasato. Una vez extraído y colado el líquido ruminal se procedió a medir su pH inmediatamente, y a preparar muestras por duplicado para el análisis de la concentración de amoníaco y ácidos grasos volátiles (AGV). Para determinar amoníaco, 4 ml de líquido ruminal fueron mezclados con otros 4 ml de HCl 0,2N, mientras que en el caso de los AGV 4 ml de líquido de rumen se mezclaron con 1 ml de mezcla desproteínizante (0,5g HgCl, 5ml ácido ortofosfórico (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) y 0,5g de ácido 4-metil-valérico, como estándar interno, en 250 ml de agua *milli Q*). Inmediatamente después de su obtención, las muestras se congelaron a -20 °C hasta el momento de realizar los análisis.

**Tabla 5:** Composición, en g/kg, de los piensos utilizados en la segunda fase del experimento

	C	U	O10	O20
Maíz	155,29	155,39	139,41	123,49
Cebada	446,76	447,05	401,07	355,27
Soja 44	41,67	43,94	37,41	33,13
Girasol 30	60,17	60,21	54,02	47,85
Salvado y tercerillas	61,29	39,36	55,02	48,74
Gluten maíz 20	151,61	151,71	136,10	120,56
Aceite de palma	8,14	8,15	7,31	6,47
Carbonato cálcico	21,02	19,57	18,87	16,71
Sal terrestre	23,38	26,83	20,99	18,59
Corrector	3,77	3,77	3,76	3,77
Pulpa de cítricos	26,91	42,49	24,15	21,40
Urea	0	1,53	0,00	0,00
Orujo de aceituna	0	0	101,89	204,02

C: pienso control, constituido por cebada como cereal mayoritario; U: pienso C sustituyendo un 20% de la proteína de la dieta (sobre materia seca-MS) por urea; O10: pienso C sustituyendo un 10% de la MS por orujo de oliva de segunda extracción deshuesado y deshidratado; O20: pienso C sustituyendo un 20% de la MS por el mismo orujo de oliva.

## 6.2. ANÁLISIS QUÍMICOS

La composición química de los piensos y de la paja utilizados en cada fase de crecimiento del ensayo de producción (MS, MO, PB, EE, FND, FAD y LAD), así como de los residuos de cada alimento y de las muestras de heces del balance de digestibilidad (MS, MO, PB y FND) fue analizada en el laboratorio de Nutrición Animal del Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos, en la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Zaragoza. Las muestras tomadas durante el balance de

digestibilidad fueron consideradas representativas de los piensos y la paja ofrecidos durante la primera fase de crecimiento. Las muestras de piensos tomadas durante el ensayo de fermentación ruminal fueron consideradas representativas de los piensos ofrecidos durante la segunda fase de crecimiento del ensayo de producción.

La MS de laboratorio fue obtenida mediante secado en estufa a 104°C durante 24 horas, y la MO mediante incineración a 550°C durante 8 horas (AOAC 2005). El nitrógeno total fue determinado siguiendo el método Kjeldahl, usando cobre como catalizador (AOAC 2005) y un equipo *2300 Kjeltex Analyzer Unit (Foss Tecator)*. El EE fue determinado utilizando un *ANKOM<sup>XT15</sup> Extraction System* y siguiendo las recomendaciones del fabricante. La FND se analizó con un equipo *ANKOM<sup>200</sup> Fiber Analyzer*, de acuerdo con el método propuesto por Mertens (2002). La FAD y la LAD de los alimentos se determinó de acuerdo con los procedimientos descritos por la AOAC (2005) y por Robertson y Van Soest (1981), respectivamente. Ambas entidades fueron expresadas libres de cenizas.

La concentración de amoníaco en el líquido ruminal fue determinada por el método de colorimetría desarrollado por Chaney and Marbach (1962), y la de AGV por cromatografía de gases siguiendo el método descrito por Jouany (1982). Sólo se analizó una de las dos muestras recogidas, reservándose la otra para el caso de posibles complicaciones. Las muestras para el análisis de AGV fueron centrifugadas a 3000g durante 15 minutos, y los sobrenadantes (0,2µl) inyectados en un cromatógrafo de gases Agilent 6890 provisto con una columna capilar HP-FFAP de 30m x 0,530mm (1,0µm de espesor de la fase estacionaria), inyector automático y detector de ionización de llama. El gas portador fue helio (10ml/min), al igual que el gas *make-up* (45ml/min). El inyector se programó para seguir la temperatura del horno, que evolucionó de la siguiente forma: 150°C durante 0,2 minutos, una rampa de 10°C/min hasta los 190°C, manteniéndose 0,2 minutos, y una segunda rampa de 25°C/min hasta los 240°C, manteniéndose 25 minutos. El tiempo de equilibrio se fijó en 5 minutos. El detector se mantuvo a 250°C durante todo el proceso. Los datos de área de los picos fueron procesados usando el software HP ChemStation (versión A.08.03). Los factores de respuesta del detector para los AGV individuales fueron determinados inyectando en el cromatógrafo una mezcla de ácidos acético, propiónico, butírico, isobutírico, valérico, isovalérico y 4-metil-valérico cada ocho muestras.

### 6.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los efectos de los tratamientos sobre la ingestión, digestibilidad, ganancia media diaria de los animales, pH y concentraciones de amoníaco y AGV en el líquido ruminal, fueron analizados mediante un análisis de varianza de una vía, utilizando el paquete estadístico SAS (versión 9.2). Las diferencias entre tratamientos fueron analizadas empleando el test de Tukey en caso de no haber datos faltantes, y mediante el test de Scheffé en el caso de eliminación de datos. A este respecto, fue preciso eliminar los resultados correspondientes a dos animales del balance de digestibilidad (ambos del tratamiento O10), uno por error en la obtención del porcentaje de MS de las heces y otro

por problemas de salud del animal objeto de estudio. Durante el ensayo de producción fue necesario eliminar dos animales del tratamiento C (ambos durante la segunda fase), uno del tratamiento U (durante la segunda fase), dos del tratamiento O10 (ambos durante la segunda fase) y dos del tratamiento O20 (uno durante la primera fase y otro durante la segunda).

Tanto el peso vivo final como la ganancia media diaria se corrigieron por covarianza, utilizando el peso vivo inicial como covariable.

## 7. RESULTADOS

### 7.1. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LAS DIETAS

La composición química de los piensos y de la paja empleados en el balance de digestibilidad (como representativos de los empleados en la Fase 1 del ensayo de producción) se muestra en la Tabla 6, mientras que en la Tabla 7 se ofrece la composición química de los piensos y la paja ofrecidos durante el ensayo de fermentación ruminal, como representativos de los consumidos durante la Fase 2 del ensayo de producción animal.

**Tabla 6:** Composición química de los piensos y la paja ofrecidos durante el balance de digestibilidad (n = 4), como representativos de los consumidos durante la Fase 1 del ensayo de producción

	C	U	O10	O20	PAJA
MS (g/kg)	87,93±1,404	86,21±0,232	87,43±0,497	88,10±0,919	94,12±0,591
MO (g/kg MS)	91,99±0,127	91,24±0,297	91,64±0,068	91,87±0,175	94,79±0,559
PB (g/kg MS)	17,02±0,318	16,74±0,307	17,09±0,297	16,01±0,323	3,53±0,645
EE (g/kg MS)	3,41±0,286	3,49±0,147	2,99±0,045	2,94±0,363	2,27±0,348
FND (g/kg MS)	18,57±0,106	17,85±0,358	22,71±0,815	26,42±0,437	78,00±1,460
FAD (g/kg MS)	7,47±0,096	7,07±0,169	11,36±0,542	14,84±0,463	49,58±0,606
LAD (g/kg MS)	1,05±0,037	0,79±0,050	3,21±0,216	5,15±0,264	6,12±0,454

C: pienso control, constituido por cebada como cereal mayoritario; U: pienso C sustituyendo un 20% de la proteína de la dieta (sobre materia seca-MS) por urea; O10: pienso C sustituyendo un 10% de la MS por orujo de oliva de segunda extracción deshuesado y deshidratado; O20: pienso C sustituyendo un 20% de la MS por el mismo orujo de oliva.

MO: materia orgánica; PB: proteína bruta; EE: extracto etéreo; FND: fibra neutro detergente; FAD: fibra ácido detergente; LAD: lignina ácido detergente.

Como se puede apreciar, la composición tanto de los piensos como de la paja fue muy similar en las dos fases, estando los contenidos en proteína de los concentrados dentro de los rangos previstos durante su formulación. Como era de esperar, los contenidos en FND, FAD y LAD de los piensos que incorporaban orujo fueron superiores a los de las dietas C y U, con mayores valores en el caso de la incorporación de un 20% de la MS que cuando se incorporaba sólo un 10% de la MS.

**Tabla 7:** Composición química de los piensos y la paja ofrecidos durante el ensayo de fermentación ruminal, como representativos de los consumidos durante la Fase 2 del ensayo de producción

	C	U	O10	O20	PAJA
MS (g/kg)	91,39	91,31	91,56	91,30	92,65
MO (g/kg MS)	93,08	93,12	92,7	92,62	96,40
PB (g/kg MS)	14,78	14,75	14,93	14,58	3,27
EE (g/kg MS)	3,96	3,93	3,96	3,82	1,93
FND (g/kg MS)	18,37	17,18	22,74	27,01	80,62
FAD (g/kg MS)	6,71	6,27	10,10	13,65	52,08
LAD (g/kg MS)	0,55	0,41	2,09	4,13	5,82

C: pienso control, constituido por cebada como cereal mayoritario; U: pienso C sustituyendo un 20% de la proteína de la dieta (sobre materia seca-MS) por urea; O10: pienso C sustituyendo un 10% de la MS por orujo de oliva de segunda extracción deshuesado y deshidratado; O20: pienso C sustituyendo un 20% de la MS por el mismo orujo de oliva.

MO: materia orgánica; PB: proteína bruta; EE: extracto etéreo; FND: fibra neutro detergente; FAD: fibra ácido detergente; LAD: lignina ácido detergente.

## 7.2 GANANCIA MEDIA DE DIARIA DE LOS TERNEROS, Y DIGESTIBILIDAD DE LAS DIETAS CONSUMIDAS, EN EL ENSAYO DE PRODUCCIÓN

En la Tabla 8 se presentan los pesos vivos iniciales, pesos vivos finales y ganancias medias diarias de los terneros en cada una de las fases del ensayo de producción, así como a lo largo de todo el periodo de cebo.

El pienso consumido no afectó de manera estadísticamente significativa a ninguna de las variables estudiadas, aunque hubo una tendencia ( $P = 0,0771$ ) a que el peso vivo final de los animales que consumieron los piensos C y O20 fuera inferior al terminar la primera fase de crecimiento.

Por otro lado, las ingestiones de MS y MO (Tabla 9) en forma de pienso y paja durante el balance de digestibilidad, así como las de PB y materia orgánica digestible (MOD) (Tabla 10) tampoco variaron entre tratamientos ( $P > 0,10$ ). Ello condujo a que las ingestiones totales (pienso más paja) no lo hicieran.

Los valores de digestibilidad aparente (Tabla 11) siguieron la misma tendencia que los de ingestión, con ausencia de diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes tratamientos. En el caso de la PB, hubo una tendencia ( $P = 0,0772$ ) a que su digestibilidad fuera menor en los animales que consumieron la dieta O20.

**Tabla 8:** Pesos vivos inicial (PVI) y final (PVF), y ganancia media diaria (GMD) de terneros en crecimiento que consumían diferentes dietas

	C	U	O10	O20	DRE	P
Fase 1						
PVI (kg)	139	137	138	138	17,6	0,9735
PVF (kg)	249	252	256	246	16,8	0,0771
GMD (kg/día)	1,32	1,35	1,40	1,29	0,205	0,1070
Fase 2						
PVF (kg)	387	388	389	393	25,0	0,7906
GMD (kg/día)	1.28	1.32	1.31	1.31	0,218	0,8619
Total						
PVF (kg)	388	390	394	387	32,7	0,8231
GMD (kg/día)	1,35	1,36	1,38	1,34	0,174	0,7582

C: pienso control, constituido por cebada como cereal mayoritario; U: pienso C sustituyendo un 20% de la proteína de la dieta (sobre materia seca-MS) por urea; O10: pienso C sustituyendo un 10% de la MS por orujo de oliva de segunda extracción deshuesado y deshidratado; O20: pienso C sustituyendo un 20% de la MS por el mismo orujo de oliva.

El peso vivo final de la Fase 1 coincide con el peso vivo inicial de la Fase 2; DRE: desviación residual estándar (datos faltantes); P: probabilidad de las diferencias.

### 7.3 FERMENTACIÓN RUMINAL

Las ingestiones de MS durante el ensayo de fermentación ruminal se muestran en la Tabla 12, mientras que los valores de pH, y de concentración de amoníaco y AGV se presentan en la Tabla 13.

Al igual que en el balance de digestibilidad del ensayo de producción, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ( $P > 0,10$ ) en la ingestión de MS de pienso, paja o total. Tampoco se observaron diferencias debidas a la dieta consumida ni en el pH, ni en las concentraciones de amoníaco o AGV del líquido ruminal ( $P > 0,10$ ).

En cuanto a la evolución de las diferentes variables a lo largo del día, la Figura 1 muestra una disminución del pH, coincidente con un incremento de las concentraciones medias de AGV durante las primeras 8 horas tras la administración del alimento, mientras que la concentración de amoníaco aumentó a las 4 horas para disminuir posteriormente.

Por lo que se refiere a las proporciones molares de los diferentes AGV, la Tabla 14 muestra los resultados obtenidos en los diferentes tiempos de muestreo del líquido ruminal. Las únicas diferencias estadísticamente significativas halladas fueron en las proporciones molares de los ácidos acético, propiónico, isovalérico y valérico a las ocho horas de muestreo del líquido ruminal, con menores proporciones, en general, de ácidos acético ( $P = 0,0211$ ) e isovalérico ( $P = 0,0299$ ) en los animales alimentados con el pienso control, y mayores proporciones de ácidos propiónico ( $P = 0,0211$ ) y valérico ( $P = 0,0012$ ) en estos mismos animales.

La evolución de las proporciones molares de los diferentes AGV a lo largo del tiempo siguió pautas diferentes dependiendo del ácido considerado, y del tratamiento al que los animales fueron sometidos (Figura 2).

**Tabla 9:** Ingestión de materia seca (MS) y materia orgánica (MO) total, de pienso y de paja, de terneros en crecimiento que consumían diferentes dietas

	C	U	O10	O20	DRS	P
<b>MS (kg/día)</b>						
Total	4,66	4,51	5,26	5,39	1,081	0,6010
Pienso	4,00	3,64	4,63	4,60	0,989	0,4501
Paja	0,66	0,87	0,64	0,79	0,196	0,3336
<b>MS (g/kg PV)</b>						
Total	24,52	22,40	26,83	26,66	4,771	0,5347
Pienso	21,06	18,02	23,60	22,78	4,407	0,3338
Paja	3,46	4,38	3,23	3,89	0,947	0,3711
<b>MS (g/kg PV<sup>0,75</sup>)</b>						
Total	91,01	84,34	100,39	100,51	18,428	0,5546
Pienso	78,16	67,93	88,32	85,85	16,980	0,3629
Paja	12,85	16,41	14,66	16,41	3,582	0,3617
<b>MO (kg/día)</b>						
Total	4,31	4,15	4,84	4,98	0,992	0,5952
Pienso	3,69	3,32	4,24	4,23	0,904	0,4339
Paja	0,63	0,83	0,60	0,75	0,184	0,3146
<b>MO (g/kg PV)</b>						
Total	22,68	20,58	24,68	24,63	4,379	0,5235
Pienso	19,40	16,42	21,61	20,94	4,027	0,3144
Paja	3,28	4,17	3,07	3,69	0,887	0,3506
<b>MO (g/kg PV<sup>0,75</sup>)</b>						
Total	84,19	77,51	92,33	92,84	16,910	0,5449
Pienso	72,00	61,88	80,86	78,92	15,518	0,3439
Paja	12,19	15,64	11,48	13,92	3,355	0,3406

C: pienso control, constituido por cebada como cereal mayoritario; U: pienso C sustituyendo un 20% de la proteína de la dieta (sobre materia seca-MS) por urea; O10: pienso C sustituyendo un 10% de la MS por orujo de oliva de segunda extracción deshuesado y deshidratado; O20: pienso C sustituyendo un 20% de la MS por el mismo orujo de oliva.

DRS: desviación residual estándar (datos faltantes); P: probabilidad de las diferencias.

**Tabla 10:** Ingestión de proteína bruta (PB) y materia orgánica digestible (MOD) total, de pienso y de paja, de terneros en crecimiento que consumían diferentes dietas

	C	U	O10	O20	DRS	P
<b>PB (kg/día)</b>						
Total	0,68	0,61	0,78	0,75	0,171	0,5849
Pienso	0,66	0,59	0,75	0,72	0,026	0,5999
Paja	0,02	0,02	0,03	0,03	0,009	0,5198
<b>PB (g/kg PV)</b>						
Total	3,56	3,04	3,97	3,69	0,769	0,4590
Pienso	3,48	2,92	3,84	3,59	0,779	0,4689
Paja	0,09	0,13	0,13	0,11	0,047	0,6155
<b>PB (g/kg PV<sup>0,75</sup>)</b>						
Total	13,23	11,46	14,86	13,92	2,954	0,4918
Pienso	12,91	11,00	14,37	13,51	2,991	0,5020
Paja	0,32	0,47	0,49	0,41	0,179	0,6053
<b>MOD (kg/día)</b>						
Total	3,37	3,26	3,63	3,62	0,873	0,9138
Pienso	2,88	2,61	3,17	3,08	0,785	0,7854
Paja	0,49	0,65	0,47	0,54	0,150	0,4108
<b>MOD (g/kg PV)</b>						
Total	17,68	16,14	18,15	17,92	3,865	0,8878
Pienso	15,12	12,90	15,81	15,23	3,493	0,6863
Paja	2,55	3,24	2,34	2,69	0,717	0,4051
<b>MOD (g/kg PV<sup>0,75</sup>)</b>						
Total	65,66	60,82	68,26	67,55	14,940	0,9013
Pienso	56,16	48,64	59,45	57,40	13,488	0,7180
Paja	9,50	12,18	8,81	10,14	2,716	0,4062

C: pienso control, constituido por cebada como cereal mayoritario; U: pienso C sustituyendo un 20% de la proteína de la dieta (sobre materia seca-MS) por urea; O10: pienso C sustituyendo un 10% de la MS por orujo de oliva de segunda extracción deshuesado y deshidratado; O20: pienso C sustituyendo un 20% de la MS por el mismo orujo de oliva.

DRS: desviación residual estándar (datos faltantes); P: probabilidad de las diferencias

**Tabla 11:** Digestibilidad aparente de la materia seca (DMS), materia orgánica (DMO), proteína bruta (DPB) y fibra neutro detergente (DFND) (%) de terneros en crecimiento que consumían diferentes dietas

	C	U	O10	O20	DRS	P
DMS	76,84	76,81	75,04	71,37	3,601	0,1723
DMO	78,16	78,52	76,10	72,50	3,402	0,1072
DPB	74,99	74,67	75,08	67,04	4,366	0,0772
DFND	57,14	63,18	52,88	52,17	7,350	0,2247

C: pienso control, constituido por cebada como cereal mayoritario; U: pienso C sustituyendo un 20% de la proteína de la dieta (sobre materia seca-MS) por urea; O10: pienso C sustituyendo un 10% de la MS por orujo de oliva de segunda extracción deshuesado y deshidratado; O20: pienso C sustituyendo un 20% de la MS por el mismo orujo de oliva.

DRS: desviación residual estándar (dos datos faltantes); P: probabilidad de las diferencias.

**Tabla 12:** Ingestión de materia seca (MS) total, de pienso y de paja, de terneros en crecimiento que consumían diferentes dietas durante un ensayo de estudio de la fermentación ruminal

	C	U	O10	O20	EEM	P
MS (kg/día)						
Total	10,02	9,12	11,10	10,77	0,716	0,2603
Pienso	8,59	7,45	9,65	9,41	0,721	0,1831
Paja	1,44	1,66	1,44	1,36	0,269	0,8708
MS (g/kg PV)						
Total	21,29	19,25	22,81	22,43	1,547	0,3988
Pienso	18,21	15,72	19,83	19,56	1,489	0,2428
Paja	3,08	3,53	2,98	2,86	0,590	0,8654
MS (g/kg PV <sup>0,75</sup> )						
Total	99,16	89,78	107,10	104,96	7,010	0,3546
Pienso	84,85	73,35	93,13	91,59	6,927	0,2219
Paja	14,30	16,43	13,97	13,37	2,718	0,8668

C: pienso control, constituido por cebada como cereal mayoritario; U: pienso C sustituyendo un 20% de la proteína de la dieta (sobre materia seca-MS) por urea; O10: pienso C sustituyendo un 10% de la MS por orujo de oliva de segunda extracción deshuesado y deshidratado; O20: pienso C sustituyendo un 20% de la MS por el mismo orujo de oliva.

EEM: error estándar de la media del análisis de varianza; P: probabilidad de las diferencias.

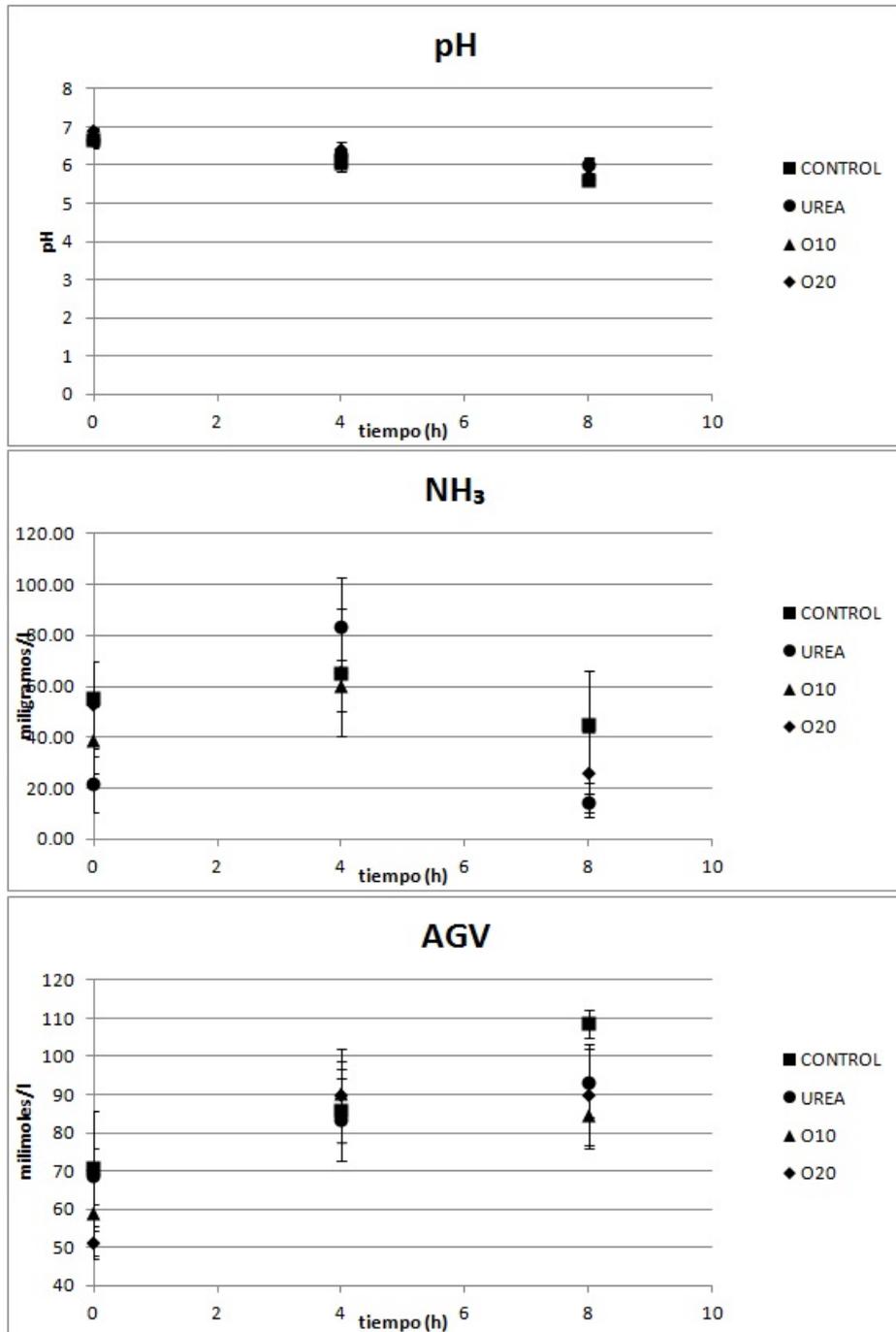
**Tabla 13:** pH y concentraciones medias de amoníaco (NH<sub>3</sub>; mg/l) y ácidos grasos volátiles (AGV; mmol/l) en el rumen de terneros en crecimiento que consumían diferentes dietas

	C	U	O10	O20	EEM	P
pH						
H0	6,65	6,63	6,73	6,88	0,167	0,7088
H4	6,06	6,27	6,04	6,40	0,172	0,4074
H8	5,61	5,99	5,80	6,05	0,161	0,2641
NH <sub>3</sub>						
H0	55,04	21,58	38,88	52,68	13,338	0,3099
H4	65,08	83,36	60,24	65,42	18,556	0,8245
H8	44,46	14,12	43,86	25,80	18,752	0,6155
AGV						
H0	88,31	85,64	73,43	63,75	12,986	0,5336
H4	107,09	104,26	112,51	112,48	13,746	0,9646
H8	135,78	116,34	105,81	112,45	11,573	0,3388

C: pienso control, constituido por cebada como cereal mayoritario; U: pienso C sustituyendo un 20% de la proteína de la dieta (sobre materia seca-MS) por urea; O10: pienso C sustituyendo un 10% de la MS por orujo de oliva de segunda extracción deshuesado y deshidratado; O20: pienso C sustituyendo un 20% de la MS por el mismo orujo de oliva.

H0: muestra de líquido ruminal tomada inmediatamente antes de la administración de la comida (09:00 horas); H4: muestra de líquido ruminal tomada cuatro horas después de la administración de la comida (13:00 horas); H8: muestra de líquido ruminal tomada ocho horas después de la administración de la comida (17:00 horas).

EEM: error estándar de la media del análisis de varianza; P: probabilidad de las diferencias.



**Figura 1:** Evolución en el tiempo (horas tras la administración del alimento) de los valores medios de pH, y de las concentraciones medias de amoníaco (NH<sub>3</sub>; mg/l) y ácidos grasos volátiles (AGV; mmol/l) en el rumen de terneros en crecimiento que consumían diferentes dietas (Control: pienso control, constituido por cebada como cereal mayoritario; Urea: pienso control sustituyendo un 20% de la proteína de la dieta (sobre materia seca-MS) por urea; O10: pienso control sustituyendo un 10% de la MS por orujo de oliva de segunda extracción deshuesado y deshidratado; O20: pienso control sustituyendo un 20% de la MS por el mismo orujo de oliva)

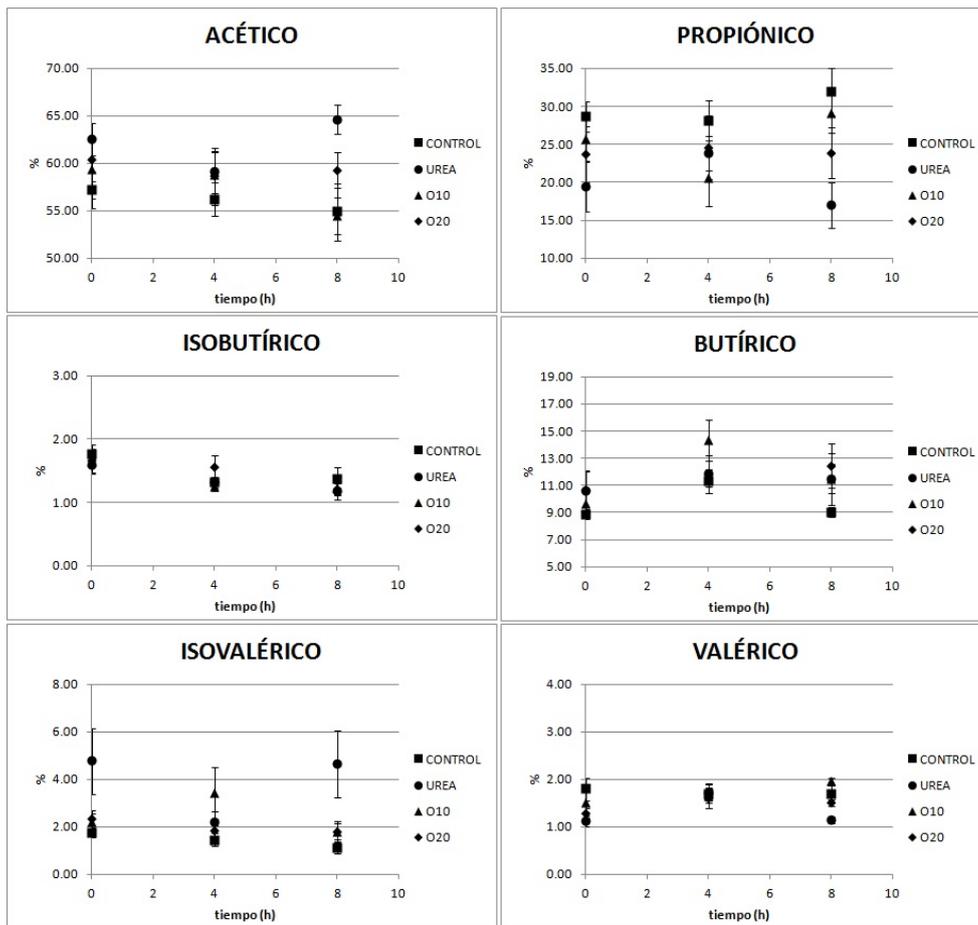
**Tabla 14:** Proporciones molares de los ácidos acético, propiónico, isobutírico, butírico, isovalérico y valérico en el rumen de terneros en crecimiento que consumían diferentes dietas

	C	U	O10	O20	EEM	P
<b>Acético</b>						
H0	57.18	62.53	59.36	60.39	2.317	0.4605
H4	56.21	59.08	58.82	58.63	2.384	0.8171
H8	54.89 <sub>a</sub>	64.59 <sub>b</sub>	54.46 <sub>b</sub>	59.23 <sub>ab</sub>	2.144	0.0196
<b>Propiónico</b>						
H0	28.65	19.40	25.65	23.67	3.024	0.2307
H4	28.08	23.83	20.57	24.58	3.303	0.4827
H8	31.93 <sub>b</sub>	16.99 <sub>a</sub>	29.08 <sub>ab</sub>	23.87 <sub>ab</sub>	3.018	0.0211
<b>Isobutírico</b>						
H0	1.75	1.59	1.65	1.65	0.141	0.8701
H4	1.32	1.32	1.25	1.56	0.109	0.2451
H8	1.36	1.17	1.24	1.17	0.134	0.7268
<b>Butírico</b>						
H0	8.88	10.60	9.65	10.67	1.110	0.6352
H4	11.31	11.86	14.32	11.82	1.209	0.3365
H8	9.03	11.45	11.47	12.44	1.368	0.3770
<b>Isovalérico</b>						
H0	1.75	4.78	2.18	2.35	0.749	0.0567
H4	1.40	2.21	3.41	1.82	0.604	0.1599
H8	1.12 <sub>a</sub>	4.65 <sub>b</sub>	1.81 <sub>ab</sub>	1.80 <sub>ab</sub>	0.767	0.0299
<b>Valérico</b>						
H0	1.79	1.12	1.52	1.28	0.219	0.2025
H4	1.68	1.71	1.64	1.61	0.207	0.9865
H8	1.69 <sub>bc</sub>	1.15 <sub>a</sub>	1.96 <sub>c</sub>	1.50 <sub>ab</sub>	0.105	0.0012

C: pienso control, constituido por cebada como cereal mayoritario; U: pienso C sustituyendo un 20% de la proteína de la dieta (sobre materia seca-MS) por urea; O10: pienso C sustituyendo un 10% de la MS por orujo de oliva de segunda extracción deshuesado y deshidratado; O20: pienso C sustituyendo un 20% de la MS por el mismo orujo de oliva.

H0: muestra de líquido ruminal tomada inmediatamente antes de la administración de la comida (09:00 horas); H4: muestra de líquido ruminal tomada cuatro horas después de la administración de la comida (13:00 horas); H8: muestra de líquido ruminal tomada ocho horas después de la administración de la comida (17:00 horas).

EEM: error estándar de la media del análisis de varianza; P: probabilidad de las diferencias.



**Figura 2:** Evolución en el tiempo (horas tras la administración del alimento) de las proporciones molares de los ácidos acético, propiónico, isobutírico, butírico, isovalérico y valérico en el rumen de terneros en crecimiento que consumían diferentes dietas (Control: pienso control, constituido por cebada como cereal mayoritario; Urea: pienso control sustituyendo un 20% de la proteína de la dieta (sobre materia seca-MS) por urea; O10: pienso control sustituyendo un 10% de la MS por orujo de oliva de segunda extracción deshuesado y deshidratado; O20: pienso control sustituyendo un 20% de la MS por el mismo orujo de oliva)

## 8. DISCUSIÓN

Durante la elaboración del capítulo de Revisión Bibliográfica del presente trabajo se localizaron estudios realizados con ganado ovino, caprino y porcino, así como con conejos, pero no fue posible encontrar publicaciones que mostraran el efecto de la adición de orujo de oliva sobre los rendimientos productivos de terneros en cebo. Por otra parte, en este proyecto se empleó orujo de oliva de segunda extracción deshuesado y deshidratado, con un bajo contenido en grasa, sobre cuya utilización se han encontrado escasísimas referencias. La razón de la elección de este subproducto fue el fuerte incremento que ha sufrido el consumo de aceite de orujo en los últimos años, con el consiguiente aumento en la producción de aquél.

La composición química de los piensos formulados se consideró normal, teniendo en cuenta que el orujo empleado fue de segunda extracción y presentó tan sólo un 2,25% de EE. Por esta razón, el contenido en grasa de todos los piensos estuvo por debajo del 4%, por lo que no se esperó que afectara a la normal actividad de la microflora ruminal. Aún deshuesado, este orujo presentó altos contenidos en FND (61,13%), FAD (49,10%) y LAD (26,00%), por lo que los piensos que incluyeron este subproducto presentaron mayores concentraciones de las diferentes fracciones de la pared celular (Tablas 6 y 7).

El resultado más interesante obtenido en el presente trabajo fue la ausencia de diferencias, en términos de rendimientos de los animales, entre una dieta control, elaborada a base de cebada como cereal mayoritario, y piensos que incluían hasta un 20% de orujo de oliva de segunda extracción. *A priori*, podría esperarse que esta ausencia de diferencias se viera reflejada en un incremento de la ingestión de los piensos con orujo, de menor concentración energética. Sin embargo, los resultados mostrados en la Tabla 9 mostraron que, si bien es cierto que los tratamientos O10 y O20 provocaron mayores ingestiones, éstas no fueron significativamente diferentes de las encontradas con la dieta control. Es cierto que las ingestiones mostradas en la Tabla 9 fueron obtenidas en un balance de digestibilidad en el que, con certeza, los animales sufrieron un alto grado de estrés debido a su reclusión en las jaulas de metabolismo, y que esta circunstancia muy probablemente afectó a la ingestión. Sin embargo, cuando se compararon las ingestiones del balance de digestibilidad con las obtenidas en el estudio de fermentación ruminal (Tabla 12), durante el que los animales estuvieron alojados en circunstancias mucho más confortables, se observaron valores prácticamente idénticos de consumo de MS por kg de peso metabólico. Dado que la digestibilidad de la MS y sus fracciones (Tabla 11) tampoco difirió entre tratamientos, los consumos de materia orgánica digestible, representativos del status energético del animal, fueron prácticamente idénticos con todos los piensos (Tabla 10). Esta situación puede estar relacionada con la hipótesis de que la regulación de la ingestión en rumiantes alimentados con dietas con altas proporciones de concentrados depende de la interacción entre los aportes y las necesidades de energía neta (Gherardi y Black 1989; Weston 1996).

A pesar de los resultados de ingestión obtenidos durante el balance de digestibilidad y el ensayo de fermentación ruminal, y dada la importancia del ambiente en el consumo de

los animales, en abril del presente año se llevó a cabo un estudio de la ingestión individual de los terneros alojados en los corrales de la prueba de producción, utilizando la metodología de los n-alcanos. Los resultados de dicho experimento no han podido ser incluidos en el presente proyecto por no contar con los datos analíticos en las fechas necesarias.

En el experimento de fermentación ruminal tampoco se observaron diferencias entre tratamientos, tanto en los valores medios diarios de pH del líquido ruminal como en los de concentración de amoníaco y AGV (Tabla 13). Estos datos confirman la hipótesis de que la adición de un subproducto poco graso, como es el orujo de oliva de segunda extracción deshuesado y deshidratado, no produce efectos negativos sobre la población microbiana del rumen de los terneros en crecimiento. El número de bajas en los corrales fue de dos animales en cada uno de los tratamientos C, O10 y O20, y de uno del tratamiento U, y siempre se encontraron relacionadas con pesos bajos y procesos infecciosos. Las únicas diferencias halladas en el ensayo de fermentación ruminal fueron en las proporciones molares de los ácidos acético, propiónico, isovalérico y valérico a las ocho horas de muestreo del líquido ruminal, con menores proporciones, en general, de ácidos acético e isovalérico en los animales alimentados con el pienso control, y mayores proporciones de ácidos propiónico y valérico en estos mismos animales (Tabla 14 y Figura 2). Las mayores proporciones de ácido acético, y las menores de propiónico, en el rumen de los animales alimentados con las dietas con orujo de oliva a las ocho horas tras la administración del alimento, indican el posible efecto de este subproducto como modulador de la aparición del síndrome de acidosis. El alto contenido en pared celular es, probablemente, el causante de los resultados obtenidos.

La sustitución de un 20% de la proteína de la dieta C por urea tampoco tuvo ningún efecto sobre los rendimientos productivos de los animales o las variables de fermentación ruminal, excepto por la aparición de mayores proporciones de ácido acético, y menores de propiónico en el rumen a las ocho horas tras la administración del alimento. Estas diferencias pueden estar relacionadas con el menor consumo de concentrado y mayor consumo de paja, aunque no significativos, por parte de los terneros a los que se les suministró el tratamiento con urea (Tabla 12). Los resultados obtenidos también llevan a pensar en el posible efecto modulador de la urea en la aparición del síndrome de acidosis, y confirma la ausencia de efectos positivos de la sincronización entre la liberación de energía y nitrógeno en el rumen sobre la actividad microbiana, anteriormente puesta de manifiesto por Reynolds and Kristensen (2008). A este respecto, es importante señalar que la concentración media diaria de amoníaco en el rumen (Tabla 13) se mantuvo, en general, en el entorno de los 50 mg/l, considerado el umbral mínimo para una adecuada síntesis microbiana (Satter y Slyter, 1974). Este valor fue más difícil de alcanzar precisamente con la dieta con urea, probablemente debido a la rápida degradabilidad de ésta (Figura 1) y a la rápida captación del amoníaco resultante por los microorganismos y/o a su absorción a través de las paredes del rumen. A este respecto, durante la prueba de fermentación ruminal se recogieron muestras de orina de cada uno de los animales para determinar si la concentración de amoníaco en el rumen se reflejaba en la de urea en la

orina. Los resultados, sin embargo, no han podido ser incluidos en el presente proyecto por falta de tiempo.

## 9. CONCLUSIONES

- 1.- La sustitución por urea de un 20% de la proteína de un pienso constituido por cebada como cereal mayoritario, y por harina de soja como principal suplemento proteico, no afecta ni a los rendimientos productivos de los animales ni a las variables de fermentación ruminal (pH y concentraciones de amoniaco y ácidos grasos volátiles). El hipotético efecto beneficioso de la sincronización entre la liberación de energía y nitrógeno en el rumen queda, por tanto, en entredicho.
- 2.- La sustitución por orujo de oliva de segunda extracción, deshuesado y deshidratado, de hasta un 20% de la materia seca de un pienso constituido por cebada como cereal mayoritario no afecta ni a los rendimientos productivos de los animales ni a las variables de fermentación ruminal (pH y concentraciones de amoniaco y ácidos grasos volátiles).
- 3.- La incorporación de urea y del orujo descrito en los piensos para vacuno de engorde deberá depender, por tanto, de su precio de mercado.

## 10. BIBLIOGRAFÍA

- Aguilera, J. F. and E. Molina (1986). "Effect of soda treatment on the feeding value of olive cakes". Annales De Zootechnie 35(3): 205-218.
- Al-Masri, M. R. (2003). "An in vitro evaluation of some unconventional ruminant feeds in terms of the organic matter digestibility, energy and microbial biomass." Tropical Animal Health and Production 35(2): 155-167.
- AOAC International, 2005 AOAC International, 2005. Official Methods of Analysis of AOAC International, 18th ed. Gaithersburg, MD, USA
- Asfi, M., G. Ouzounidou, et al. (2012). "Toxicity effects of olive-mill wastewater on growth, photosynthesis and pollen morphology of spinach plants." Ecotoxicology and environmental safety 80: 69-75.
- Bacha, F., Llanes, N., Bueno, E., (2005). "Alimentación de terneros en ausencia de promotores de crecimiento de tipo antibiótico: control de timpanismo y acidosis". XXI Curso de especialización FEDNA. pp. 131-158
- Barranco, D. Fernández-Escobar, R. Rallo, L. (1996). "El cultivo del olivo". MundiPrensa. 617
- Ben Salem, H., A. Nefzaoui, et al. (2000). "Deactivation of condensed tannins in *Acacia cyanophylla* Lindl. foliage by polyethylene glycol in feed blocks - Effect on feed intake, diet digestibility, nitrogen balance, microbial synthesis and growth by sheep." Livestock Production Science 64(1): 51-60.
- Brito, A. F. and G. A. Broderick (2007). "Effects of different protein supplements on milk production and nutrient utilization in lactating dairy cows." J Dairy Sci 90(4): 1816-1827.
- Brlek, T., N. Voc'á, et al. (2012). "Quality of pelleted olive cake for energy generation." 77(1): 31-35.
- Broderick, G. A. and S. M. Reynal (2009). "Effect of source of rumen-degraded protein on production and ruminal metabolism in lactating dairy cows." J Dairy Sci 92(6): 2822-2834.
- Buxadé, C. (1995). "Zootecnia. Bases de producción animal. Tomo VII: producción vacuna de leche y carne" MundiPrensa.
- Cameron, M. R., T. H. Klusmeyer, et al. (1991). "Effects of urea and starch on rumen fermentation, nutrient passage to the duodenum, and performance of cows." J Dairy Sci 74(4): 1321-1336.
- Chaney, A. L. and E. P. Marbach (1962). "Modified reagents for determination of urea and ammonia." Clin Chem 8: 130-132.

- Chiofalo, B., L. Liotta, et al. (2004). "Administration of olive cake for ewe feeding: effect on milk yield and composition." Small Ruminant Research 55(1-3): 169-176.
- De Blas, C., García-Rebollar, P., Cambra-López, M., Torres, A.G., 2008. "El cebo de terneros en España, una actividad respetuosa con el medio ambiente". SOVAC. 39.
- Fernández-Bolaños, J., G. Rodríguez, et al. (2006). "Extraction of interesting organic compounds from olive oil waste." Grasas y Aceites (Sevilla) 57(1): 95-106.
- Fernández-Escobar, R., R. Moreno, et al. (1999). "Seasonal changes of mineral nutrients in olive leaves during the alternate-bearing cycle." Scientia Horticulturae 82(1/2): 25-45.
- Filya, I. Hanoglu, H. Canbolat, Ö. Sucu, E. (2006). "Researches on feed value and using possibilities in Lamb Fattening and dried olive-cake 2. Determination of feed value by in situ method". Uludag Univ. Zir. Fak. Derg. 201: 13-23
- García-Rebollar, P., Bacha-Baz, F., Jimeno-Vinatea, V. 2008. "Producción de ganado vacuno de carne y tipos comerciales en España. C. Sañudo, V. Jimeno, M. Cerviño (edit.)". Schering-Plough. pp. 75-88.
- Gherardi, S. G. Black, J. L. (1989). "Influence of post-ruminal supply of nutrients on rumen digesta load and voluntary intake of a roughage by sheep". British Journal of Nutrition. 62: 589-599
- Hadjipanayiotou, M. (1999). "Feeding ensiled crude olive cake to lactating Chios ewes, Damascus goats and Friesian cows." Livestock Production Science 59(1): 61-66.
- Johnson, R.R. (1976) . "Nitrogen utilization in ruminants". J. Anim. Sci. 48:1509
- Jouany, J.P. (1982) Volatile fatty acid and alcohol determination in digestive contents, silage juices, bacterial culture and anaerobic fermentor contents. Science alimentaire, 2:131-144.
- Kertz, A. F. (2010). "Review: urea feeding to dairy cattle: a historical perspective and review." Professional Animal Scientist 26(3): 257-272.
- Maluenda, M. J. (2008). "Situación actual del mercado de cereales". Albóitar 114: 56-61.
- Mangan, J. L. (1988). "Nutritional effects of tannins in animal feeds." Nutrition Research Reviews 1: 209-231.
- Martín-García, I., D. Yáñez-Ruiz, et al. (2004). "Effect of polyethylene glycol, urea and sunflower meal supply on two-stage olive cake fermentation." Animal Research 53(4): 245-257.
- Martín García, A. I., A. Moumen, et al. (2003). "Chemical composition and nutrients availability for goats and sheep of two-stage olive cake and olive leaves." Animal Feed Science and Technology 107(1-4): 61-74.

- Martín García, A. I., D. R. Yáñez Ruiz, et al. (2004). "Effect of polyethylene-glycol on the chemical composition and nutrient availability of olive (*Olea europaea* var. *europaea*) by-products." Animal Feed Science and Technology 114(1): 159-177.
- Mertens DR (2002) "Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fibre in feeds with refluxing beakers or crucibles: collaborative study." J Offic Assoc Chem Int 85, 1217-1240.
- Molina-Alcaide, E. and D. R. Yáñez-Ruiz (2008). "Potential use of olive by-products in ruminant feeding: A review." Animal Feed Science and Technology 147(1–3): 247-264.
- Molina Alcaide, E., D. Yáñez Ruiz, et al. (2003). "Chemical composition and nitrogen availability for goats and sheep of some olive by-products." Small Ruminant Research 49(3): 329-336.
- Morozov, N. N. (1980). "Effectiveness of replacement of sunflower oilmeal protein by urea concentrates or urea." Byulleten' Vsesoyuznogo Nauchno-issledovatel'skogo Instituta Razvedeniya i Genetiki Sel'skokhozyaistvennykh Zhivotnykh(44): 33-37.
- Nefzaoui, A. (1983). "Etude de l'utilisation des sous-produits d'olivier en alimentation animale en Tunisie". Animal production and Health
- Nefzaoui, A. and M. Vanbelle (1986). "Effects of feeding alkali-treated olive cake on intake, digestibility and rumen liquor parameters." Animal Feed Science and Technology 14(1/2): 139-149.
- Prasad, R. D. D., M. R. Reddy, et al. (1998). "Effect of feeding baled and stacked urea treated rice straw on the performance of crossbred cows." Animal Feed Science and Technology 73(3/4): 347-352.
- Preston, T. R. (1984). "Better Utilization of Crop Residues and By-products in Animal Feeding." Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Reid, J. T. (1953). "Urea as a Protein Replacement for Ruminants: A Review." Journal of Dairy Science 36(9): 955-996.
- Rey, J. L. (2008). "Situación actual del mercado de materias primas agroalimentarias y expectativas de futuro". Ponencia de Diálogos del ovino 2008. Organizadas por Syva, Consejo General de Veterinarios de España, y Oviaragón. CD Rom.
- Reynolds, C. K. and N. B. Kristensen (2008). "Nitrogen recycling through the gut and the nitrogen economy of ruminants: an asynchronous symbiosis." J Anim Sci 86(14 Suppl): 16.
- Richards, C. J. and B. Hicks (2007). "Processing of corn and sorghum for feedlot cattle." Vet Clin North Am Food Anim Pract 23(2): 207-221, vi.

- Robertson JB & Van Soest PJ (1981) "The detergent system of analysis". The Analysis of Dietary Fibre in Food, pp. 123-158 [WPT James and O Theander, editors]. New York: Marcel Dekker.
- Rowghani, E., M. J. Zamiri, et al. (2008). "The chemical composition, rumen degradability, in vitro gas production, energy content and digestibility of olive cake ensiled with additives." Iranian Journal of Veterinary Research 9(3): 213-221, Pe296-297.
- Ruiz, D. R., A. I. Garcia, et al. (2004). "Ruminal fermentation and degradation patterns, protozoa population and urinary purine derivatives excretion in goats and wethers fed diets based on olive leaves." J Anim Sci 82(10): 3006-3014.
- Sadeghi, H., A. T. Yansari, et al. (2009). "Effects of different olive cake by products on dry matter intake, nutrient digestibility and performance of Zel sheep." International Journal of Agriculture and Biology 11(1): 39-43.
- Sansoucy, R., Alibes, X., Berge, P.H., Martilotti, F., Nefzaoui, A., Zoïopoulos, P. (1985). Olive By-products for Animal Feed. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, © FAO.
- Satter, L. D. Slyter, L. L. (1972). "Effect of ammonia concentration on rumen microbes in vitro" J. Anim Sci. 35:273.
- Satter, L. D. Slyter, L. L. (1974). "Effect of ammonia concentration on rumen microbial protein production in vitro". Br. J. Nutr. 32:199
- Souza, V. L., R. Almeida, et al. (2010). "Effects of partial replacement of soybean meal by protected urea on milk yield and composition." Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia 62(6): 1415-1422.
- Sumitra, R., S. K. Singh, et al. (2007). "Oil cakes and their biotechnological applications - a review." Bioresour Technol 98(10): 2000-2009.
- Tajori, R. M. (2009). "Evaluation of use of olive cake silage in sheep feeding and its affect on growth rate." 441-449.
- Tamminga, S. (2006). "The effect of the supply of rumen degradable protein and metabolisable protein on negative energy balance and fertility in dairy cows." Anim Reprod Sci 96(3-4): 227-239.
- Teimour Yansari, A. Sadeghi, H. Ansari-Pirsarai, Z. Mohammad-Zadeh, H. (2007). "Ruminal dry matter and nutrient degradability of different olive cake by-products after incubation in the rumen using nylon bag technique". Int. J. Agric. Biol. 9: 439-442.
- Tekeba, E. (2012). "Effects of urea-molasses multi-nutrient blocks as a dietary supplement for dairy cows in two milk production systems in north-western Ethiopia." Livestock Research for Rural Development 24(8): Article 130.

Weston, R. H. (1996). "Some aspects of constraint to forage consumption by ruminants"  
Australian Journal of Agricultural Research. 47:175-197

Yáñez-Ruiz, D. R. and E. Molina-Alcaide (2007). "A comparative study of the effect of two-stage olive cake added to alfalfa on digestion and nitrogen losses in sheep and goats." Animal 1(2): 227-232.

